Verzögerung der hyperakuten, xenogenen Abstoßungsreaktion an der extrakorporal perfundierten Schweineniere im Schwein > Hund-System nach extremer Hämodilution

Ludwig Fiedler

1971

Aus dem Institut für experimentelle Chirurgie an der Chirurgischen Klinik
der Universität München
(Vorstand: Prof. Dr. W. Brendel)
(Direktor: Prof. Dr. Dr. h. c. R. Zenker)

Verzögerung der hyperakuten, xenogenen Abstoßungsreaktion an der extrakorporal perfundierten Schweineniere im Schwein-Hund-System nach extremer Hämodilution

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Ludwig Fiedler
aus
Augsburg

München 1971

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:	Prof. Dr. W. Brendel
Mitberichterstatter:	Priv.-Doz Dr. S. Thierfelder
Dekan:	Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 20. 7. 1971

DISSERTATIONS – und FOTODRUCK FRANK oHG
8000 München 2 · Gabelsbergerstr. 15 · Tel.: 2 80 90 90

MEINEN LIEBEN ELTERN IN
DANKBARKEIT GEWIDMET

INHALTSANGABE

	Seite
A. Einleitung	1
B. Methodik	5
I. Allgemeines	5
II. Das Modell der extrakorporalen in-vivo-Perfusion	5
III. Versuchsvorbereitungen	6
1. Vorbereitung der Schweineniere	6
2. Vorbereitung des Empfängerhundes	8
a) Operation	8
b) Vorbehandlung	8
IV. Messungen	9
V. Berechnungen	12
VI. Versuchsgruppen	12
1. In-vivo-Perfusionen	12
a) Kontrollversuche	12
b) Versuche mit Empfängervorbehandlung	14
2. Vorperfusionskontrollen	14
VII. Versuchsablauf	15
C. Ergebnisse	16
I. Die Abstoßung von Schweinenieren durch unbehandelte Hunde	16
1. Verhalten der Nierendurchblutung und des Nierengewichts	16
2. Verhalten einiger Nierenfunktionskriterien	17
a) Renale Sauerstoffaufnahme	17
b) Urinproduktion	18
c) Ausscheidung von Natrium und Kalium im Urin	18
d) Eiweißausscheidung im Urin	19
e) Erythrozytenausscheidung im Urin	20
f) Renale Freisetzung von Enzymen	20

3. Bestimmung humoraler Antikörper gegen Schweinenierengewebe, -Erythrozyten und -Leukozyten in Seren unbehandelter Hunde 24

a) Bestimmung komplementbindender Anti-Schweinenieren-Antikörper 24

b) Bestimmung von Anti-Schwein-Hämagglutininen 25

c) Bestimmung von Anti-Schwein-Leukoagglutininen 26

4. Pathologisch-anatomische Befunde an Schweinenieren vor, während und nach in-vivo-Perfusion durch unbehandelte Hunde 27

a) Makroskopische Veränderungen 27

b) Mikroskopische Veränderungen 28

II. Die Verzögerung der Abstoßung von Schweinenieren durch Hunde bei Vorbehandlung der Empfänger 31

1. Verhalten der Nierendurchblutung und des Nierengewichts 32

2. Verhalten einiger Nierenfunktionskriterien 33

a) Renale Sauerstoffaufnahme 33

b) Urinproduktion 34

c) Ausscheidung von Natrium und Kalium im Urin 37

d) Eiweißausscheidung im Urin 39

e) Erythrozytenausscheidung im Urin 40

f) Renale Freisetzung von Enzymen 40

3. Bestimmung humoraler Antikörper gegen Schweinenierengewebe, -Erythrozyten und -Leukozyten in Seren vorbehandelter Hunde 46

a) Bestimmung komplementbindender Anti-Schweinenieren-Antikörper 46

b) Bestimmung von Anti-Schwein-Hämagglutininen 47

c) Bestimmung von Anti-Schwein-Leukoagglutininen 49

4. Pathologisch-anatomische Befunde an Schweinenieren während und nach in-vivo-Perfusion durch vorbehandelte Hunde 50

a) Makroskopische Veränderungen 50

b) Mikroskopische Veränderungen 50

Seite

III. Nachweis eines vasoaktiven Prinzips im Urin von Schweinenieren bei in-vivo-Perfusion durch unbehandelte und vorbehandelte Hunde 53

IV. Zusammenfassung der Ergebnisse 56

1. Vergleich der Abstoßung von Schweinenieren durch unbehandelte und vorbehandelte Hunde 56

2. Nachweis eines vasoaktiven Prinzips im Urin von Schweinenieren bei in-vivo-Perfusion durch unbehandelte und vorbehandelte Hunde 61

D. Diskussion 62

I. Die Wertigkeit des Versuchsmodells 62

II. Die Kriterien der hyperakuten Abstoßung 63

1. Verhalten des RBF während hyperakuter Abstoßungskrisen 63

2. Nierenfunktionsänderungen während hyperakuter Abstoßungskrisen 65

3. Pathologisch-anatomische Nierenveränderungen während hyperakuter Abstoßungskrisen 68

III. Die Beeinflußbarkeit der hyperakuten Abstoßungsreaktion 69

1. Die Wirkung der Vorperfusion 69

2. Die Wirkung der Hämodilution 71

a) Die Hämodilution und ihr Einfluß auf die Blutviskosität 71

b) Die Hämodilution und ihr Einfluß auf den Proteinspiegel im Serum 72

c) Die Hämodilution und ihr Einfluß auf zelluläre Blutelemente 74

3. Die Wirkung immunsuppressiver Therapie 76

IV. Xenogene Abstoßungsmechanismen 77

E. Zusammenfassung 82

F. Literaturübersicht 84

A. EINLFITUNG

Auf Vorschlag von Reemtsma (76, 77) soll zwischen Hetero- und Xenotransplantationen unterschieden werden. Ein Heterotransplantat wird definitionsgemäß über Tierart-, -Gattungs- und -Familiengrenzen hinweg verpflanzt. Von Xenotransplantationen soll bei Organübertragungen gesprochen werden, die in einem genetisch noch stärker differierenden Spender-Empfängersystem durchgeführt werden.

Bereits zu Beginn dieses Jahrhunderts wurden Organe über Speziesgrenzen hinweg übertragen. Ullmann (97) beschrieb 1902 als einer der ersten ein derartiges Experiment. Er transplantierte eine Ziegenniere auf einen Hund. Einen therapeutischen Versuch am Menschen wagte erstmals Princeteau (73) 1905. In dieser Frühphase der Hetero- und Xenotransplantationsforschung wurden weitere klinische Versuche u. a. von Jaboulay (41), Unger (98), Schönstadt (87) und Neuhof (67) berichtet. Zahlreiche Tierversuche wurden von Unger (98) ausgeführt; in einem Experiment verpflanzte er die Nieren eines Schweines auf einen Hund. Bei diesem Experiment verendete der Empfänger 10 Stunden nach dem Eingriff. Die Vena cava des Transplantats war durch einen großen Thrombus verschlossen, "die Aorta dagegen zeigte nur eine kaum erbsengroße, wandständige Thrombose an der distalen Naht, an einer anscheinend schlechten Nahtstelle". Auch Carrel (11) und Avramovici (2) publizierten Ergebnisse xenogener Transplantationen im Tierversuch.

Nach diesen ersten, wenig ermutigenden Ergebnissen bedurfte es der Erkenntnis, daß Transplantationsphänomene immunologischen Ursprungs sind, ehe die Hetero- und Xenotransplantationsforschung entscheidende neue Impulse erhielt.

Im Laufe der 60-er Jahre berichteten mehrere Gruppen über Nierenhetero- und Nierenxenotransplantationen am Menschen (18, 27, 36, 39, 70, 78, 79, 80, 92, 96). Das Ausmaß genotypischer Unterschiede zwischen Spendern und Empfängern korrelierte in diesen klinischen Versuchsserien gut mit den Überlebenszeiten der Transplantate. So arbeitete eine Schimpansenniere im Empfänger 9 Monate (80), während eine Schweineniere nur 375 Minuten funktionierte (70). Als überraschendes Ergebnis histologischer, funktioneller und immunologischer Untersuchungen repräsentativer Kollektive transplantierter Schimpansen- und Paviannieren ergaben sich erstaunliche

Ähnlichkeiten mit den von Allotransplantationen bekannten Abstoßungsphänomenen. Bei Versuchen in genetisch stark differierenden Systemen konnten völlig neue Reaktionen beobachtet werden, die durch einen spezifisch xenogenen, komplexen Abstoßungsmechanismus erklärt werden müssen. Humorale Faktoren - präformierte, humorale Antikörper und Komplement - und zelluläre Faktoren - Thrombozyten und Leukozyten - scheinen wesentliche Komponenten xenogener Abstoßungsreaktionen zu sein.

Clark et al. (15) wiesen 1964 auf die Komplementbeteiligung bei hyperakuten Abstoßungsreaktionen hin und postulierten präformierte, humorale Antikörper als wesentliche Voraussetzung für den Ablauf derartiger Reaktionen. Diese These untermauerten Clark und Mitarbeiter (16) 1965, als sie zeigten, daß Komplemententzug und Vorbehandlung mit Spenderantigenen das hyperakute Geschehen verzögern konnten. 1966 wiesen Clark et al. (17) präformierte Antikörper auf Endothelzellen von Nierengefäßen nach Ablauf hyperakuter, xenogener Abstoßungsreaktionen nach. Der Auffassung Clark's und Mitarbeiter schlossen sich Marceau et al. (59) an. Clark et al. (13) wiesen 1967 erneut auf die Bedeutung präformierter, humoraler Antikörper bei xenogenen Abstoßungsreaktionen hin und gaben Beweise für eine mögliche Primärfunktion humoraler Mechanismen bei Abstoßungsreaktionen aller Typen, wobei das Auftreten zellulärer Elemente in jedem Fall als sekundär zu bewerten wäre.

In hyperakut abgestoßenen Transplantaten wurden Thrombozytenaggregate histologisch nachgewiesen (16, 55, 56, 57). Außerdem wurden starke Thrombozytenabnahmen in Blut, das xenotransplantierte Organe durchströmt hatte, gemessen (15, 59, 84). Leukozyten wurden ebenfalls mit xenogenen Abstoßungsreaktionen in Zusammenhang gebracht (15, 16, 59).

Zahlreiche Methoden wurden studiert, um Möglichkeiten zur Unterdrückung hyperakuter Abstoßungsreaktionen nach Transplantationen über Speziesgrenzen hinweg zu finden, so die Applikation von Antilymphozytenseren (9,12, 30, 48), Antimakrophagenseren (49), Steroiden (10, 69) oder Azathioprine (10, 69), der Versuch einer Induktion einer Toleranz (21, 59), die Maskierung von Transplantaten durch "Schutzmoleküle" (22, 88), die Ausschaltung des Komplements (17, 89), die Bestrahlung von Leukozyten (16) und die Vorbehandlung mit löslichen Transplantationsantigenen (68). Mehrere der genannten Methoden kamen in Kombinationen zur Anwendung. In der vor-

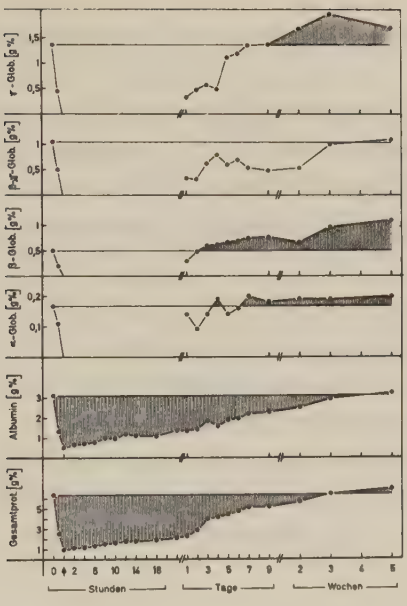

Abb. 1: Verhalten des Serumgesamteiweißes und seiner Einzelfraktionen nach extremer Hämodilution. ↑ = Hämatokrittiefstwert. Die schraffierten Flächen zeigen die signifikanten Abweichungen von den Normalspiegeln (nach W. P. Klövekorn).

liegenden Arbeit wird die Hämodilution des Transplantatempfängers als neuer Weg zur Verzögerung der hyperakuten Abstoßungsreaktion im xenogenen System vorgestellt.

Voraussetzung hierzu war die Erkenntnis, daß extreme Hämodilution mit Dextran-60 auf 2-3g% Hämoglobin von Hunden komplikationslos überlebt werden kann (38). Das Studium des Verhaltens der Serumeiweiße nach extremer Hämodilution am Hund ergab, daß γ-Globuline nach Erreichen des Hämatokrittiefstwertes mit Acetatelektrophorese nicht mehr nachgewiesen werden können und erst 20 Stunden später wieder meßbare γ-Globulinkonzentrationen erreicht werden (46). Dieser Befund ließ die Unterdrückung hyperakuter Abstoßungsreaktionen nach extremer Hämodilution des Empfängers denkbar erscheinen, da präformierte, humorale Antikörper, wie oben

ausgeführt, neben anderen Komponenten wesentlich am xenogenen Abstoßungsmechanismus beteiligt sind.

Aufgabe dieser Arbeit war es, zu untersuchen, inwiefern die xenogene Abstoßung durch eine Hämodilution beeinflußt werden kann. Als Versuchsobjekt wählten wir die Niere. Hierzu wurde ein Modell für extrakorporale Nierenperfusionen entwickelt, da die Abstoßungsreaktion der Niere unmittelbarer Beobachtung zugänglich sein sollte.

B. METHODIK

I. Allgemeines

Die Versuche zu dieser Arbeit wurden vom November 1968 bis Februar 1970 durchgeführt.

Die Spendernieren, die 140 g bis 230 g inklusive Fettgewebsresten wogen, wurden aus frisch geschlachteten deutschen Hausschweinen gewonnen, nachdem diese Tiere zuvor mit Elektroschock betäubt, entblutet, 5 Minuten in einem Heißwasserbad (65° C) erhitzt, entborstet und unter Schonung des Retroperitoneums ausgenommen worden waren. Bastardhunde beiderlei Geschlechts, zwischen 10 und 28 kg schwer, die 1 Tag vor Versuchsbeginn und am Versuchstag nahrungsfrei waren und Wasser ad libitum erhielten, perfundierten die Schweinenieren.

II. Das Modell der extrakorporalen in-vivo-Perfusion

Die Schweinenieren wurden mittels eines extrakorporalen Perfusionssystems in den peripheren Kreislauf des jeweiligen Empfängerhundes eingeschaltet. Wesentlicher Teil dieses künstlichen Nebenkreislaufs war eine Perfusionskammer aus Plexiglas mit den Abmessungen 19,5 x 17,8 x 14,6 cm (lichte Weiten). 9 cm über dem Boden war zwischen zwei Metallstäben ein Leinenstreifen gespannt, auf den die Nieren gelegt wurden. Der Abstand zur vorderen Kammerwand betrug 5,8 cm. In diese Wand waren jederzeit austauschbare Siliconschläuche eingebaut (Länge etwa 4 cm nach beiden Seiten, lichte Weite 0,45 cm). Durch sie konnte nach Herstellung der entsprechenden Steckverbindungen Blut aus der katheterisierten A. femoralis des Empfängerhundes über die kanülierte Nierenarterie in die Schweineniere und durch die Nierenvene zurück in die V. femoralis des Hundes geleitet werden. Der Ureterkatheter wurde über ein Bohrloch in der vorderen Kammerwand nach außen geführt. Am arteriellen und venösen Schenkel des extrakorporalen Kreislaufs konnten Blutproben entnommen werden. Die Oberfläche der Nieren wurde mit einem in physio-

logischer Kochsalzlösung getränkten Tupfer feuchtgehalten. Die Temperierung der Kammer erfolgte mit strömendem, 37°C warmem Wasser, das aus einem thermostatisch geregelten Wasserbad durch eine knapp über dem Kammerboden installierte Kupferspirale gepumpt wurde. Die 0,9 % Kochsalzlösung, die die Nieren umspülte, erreichte nach 15-minütigem Wärmeaustausch den Sollwert von 37°C. Öfters traten bei Beginn der Perfusion der Niere durch den Hund geringfügige Undichtigkeiten im extrakorporalen System auf - besonders durch blutende Fettgewebsgefäße; durch Ligaturen konnten die Blutungen meist gut beherrscht werden.

III. Versuchsvorbereitungen

1. Vorbereitung der Schweineniere

Im eröffneten Schweineabdomen wurde nach Inzision des dorsalen Peritoneums unter sterilen Kautelen stumpf in den Retroperitonealraum eingegangen und das die Niere umgebende Fettgewebe vorsichtig abgeschoben. Nach Luxation der Niere aus ihrer Fettkapsel wurden die Nierengefäße aufgesucht und möglichst hilusfern, meist direkt am Abgang von der Aorta abdominalis bzw. der V. cava inf., durchtrennt. Der Ureter wurde etwa 10 cm distalwärts dargestellt und dann durchtrennt. Nach Einführen eines etwa 6 cm langen Katheters[1] in die A. renalis, Fixation durch Ligatur und Sicherung durch Luftknoten wurde die Schweineniere mit einer Federwaage[2] gewogen. Bei der anschließenden Katheterisierung von V. renalis und Ureter wurde analog verfahren.

Der Einbau der Nieren in die Perfusionskammer beanspruchte durchschnittlich 2 Minuten, da die starren Gefäßkatheter den flexiblen Silikonkathetern angepaßt waren. Der arterielle Schenkel wurde durch eine Ligatur gesichert. Oft mußten 2 Venen versorgt werden, was teils Folge zu hilusnaher Durchtrennung, teils durch anatomische Variationen bedingt war. In solchen Fällen wurde mittels eines y-Stückes aus Plastik

---

1) Intramedic^{R} Polyethylene Tubing; Clay-Adams Inc. New York, PE 280 + 360.

2) "Feine Federwaage", Original "Rebüre", Höchstbelastung 5 kg.

eine gemeinsame Strombahn hergestellt. Zur Entlüftung der Gefäßkatheter verwendeten wir einen dünnen flexiblen Katheter,[1] der bis zur Verzweigung der Hauptäste von A. und V. renalis vorgeschoben wurde. Durch Zurückziehen des Katheters und gleichzeitige Füllung der Strombahn mit physiologischer Kochsalzlösung konnte der Eintritt von Luft in das Gefäßsystem der Nieren verhindert werden. Bis zu diesem Zeitpunkt waren seit Entblutung des Spenderschweines durchschnittlich 40 Minuten verstrichen (= warme Ischämiezeit).

Die kalte Vorperfusion der Nieren mit einer hypothermen (4° C) "Basislösung zum Durchströmen von Transplantaten"[2] schloß sich an (= kalte Ischämiezeit). Die Lösung setzte sich wie folgt zusammen (alle Angaben pro Liter):

NaCl	5,26	g
Na-acetat ($3H_2O$)	6,804	g
KCl	0,522	g
$CaCl_2(2H_2O)$	0,368	g
$MgCl_2(6H_2O)$	0,305	g
Traubenzucker (Dextrose, Glukose)	2,0	g
Mannit	0,5	g
Dextran (mittl. MGW 40000)	50,0	g

Für die Elektrolyte gilt:

Na	140,0 mVal	Ca	5,0 mVal
K	7,0 mVal	Mg	3,0 mVal
Cl	105,0 mVal	CH_3COO	50,0 mVal

Bezüglich der Modifikation der verwendeten Volumina dieser Basislösung siehe VI. Der Durchfluß an kalter Vorperfusionslösung betrug zunächst etwa 60 ml/min, wurde aber im weiteren Verlauf allmählich gedrosselt.

---

1) Intramedic® Polyethylene Tubing; Clay-Adams Inc. New York, PE 160

2) Fresenius KG, Chem.-Pharm. Industrie, Bad Homburg v.d.H.

2. Vorbereitung des Empfängerhundes

a) Operation:

Die Empfänger wurden mit 25 mg/kg Pentobarbital[1] i. v. narkotisiert, in Rückenlage fixiert und intubiert. Die Tiere atmeten spontan ein Sauerstoff-Luftgemisch. Unter sterilen Kautelen wurden A. und V. femoralis einer Seite präpariert, kanüliert und Katheter[2] in die Aorta abdominalis bzw. V. cava inf. vorgeschoben. Um ein Druckmesselement anschließen zu können, wurde bei einem Teil der Tiere die A. femoralis der Gegenseite freigelegt, ein Katheter eingeführt und in die Aorta abdominalis vorgeschoben. Bei den restlichen Tieren wurde das Druckmeßelement im Seitenschluß mit dem bereits liegenden arteriellen Katheter verbunden. Die Hunde wurden mit 2,5 mg/kg Heparin[3] in 0,9 % Kochsalzlösung heparinisiert.

b) Vorbehandlung:

Ein Teil der Empfängerhunde wurde wie folgt vorbehandelt:

aa) Hämodilution

Bei 9 Tieren wurde das Blut isovolämisch durch Kolloidlösung ersetzt. Nach möglichst schnellem Entzug von 10 ml/kg arteriellen Blutes durch Öffnen des in der A. femoralis liegenden Katheters wurde sofort die entnommene Blutmenge durch schnelle i.v. Infusion einer gleichen Menge normothermer 6 %-Dextran-60-Lösung[4] substituiert. Dieser Vorgang wurde solange in 10-Minutenabständen wiederholt, bis der Empfänger auf einen Hämatokrit zwischen 7 und 10 % verdünnt war.

---

1) Nembutal^{R}, Deutsche Abbott GmbH, Ingelheim/Rhein

2) Intramedic^{R} Polyethylene Tubing, Clay-Adams Inc. New York, PE 280 + 360

3) Heparin-Novo^{R}, Novo-Industrie GmbH, Mainz

4) Macrodex^{R}, Fa. Knoll AG, Ludwigshafen/Rhein

bb) Immunsuppressive Therapie

2 hämodiluierte Hunde wurden zusätzlich mit Immunsuppressiva vorbehandelt. 1 Hund erhielt an den Tagen -3, -2 und -1 prae operationem 4 ml/kg Pferde-Anti-Hundelymphozyten-Serum (Herstellung nach der Methode von Brendel und Pichlmayr (6, 71); Lymphocytotoxischer Test 1 : 2048, Leukoagglutinationstiter 1 : 128, Hämagglutinationstiter nach Hämabsorption 1 : 2) i. v., am Versuchstag 0,7 ml/kg. Einem Tier wurden 12 h vor Beginn der Hämodilution 100 mg/kg Cyclophosphamid[1] verabreicht.

IV. Messungen

1. Arterieller Mitteldruck mittels Stathamdruckmeßelement[2]; Registrierung fortlaufend auf Direktschreiber[3] bzw. Ablesen zu festen Zeitpunkten
2. Renaler Blutfluß mit Meßzylinder und Stoppuhr oder mit elektromagnetischem Flowmeter[4] und kontinuierliche Registrierung mittels Direktschreiber[3]
3. HbO_2-Sättigung, photometrisch[5]
4. Hämatokrit mit der Mikrozentrifuge (5 min, 5000 U/min)[6]
5. Hb mit der Cyanhämiglobinmethode, photometrisch[7]
6. Urinvolumen pro Zeiteinheit
7. Erythrozytenzählung im Urin unter Verwendung Hayemscher Lösung und der Neubauer-Zählkammer

---

1) Endoxan ^{R}, Asta Werke AG, Brackwede (Westfalen)

2) Statham Laboratories Inc., Hato Rey/Puerto Rico

3) Physioscript, Fa. Schwarzer, München

4) Medicon Microflow K 4000, Los Angeles

5) Oxymeter Hellige, American Optic. Comp.

6) Spezialkapillaren für Hkt-Bestimmung, Hawkley and Sons Limited, London/ Mikrozentrifuge Beckmann

7) Photometer Eppendorf

8. Messungen in Serum und Urin:
   a) Osmolarität, kryoskopisch[1)]
   b) Gesamteiweiß, Biuretmethode
   c) GOT[2)]
   d) GPT[2)]
   e) LDH[2)]
   f) Na und K[3)]

9. Bestimmung des Nierengewichts vor Versuchsbeginn mit Federwaage[4)], bei Versuchsende mit Feinwaage[5)]
10. Fixierung der Niere in 10 % Formalinlösung, teilweise auch in Vorbereitungslösung zur Einbettung in Acrylat. Weiterbearbeitung durch den Pathologen.
11. Untersuchung des Urins auf vasoaktive Substanzen (S. 53).
12. Bestimmung komplementbindender Antikörper im Hundeserum gegen Schweinenierenhomogenisat:

    Testreaktion: 0,2 ml Hundeserum (30 min Inaktivierung im Wasserbad bei 56°C) wurden in Glasröhrchen (lichte Weite 0,8 cm) mit Liebermeierpuffer als Verdünnungsmedium zu einer geometrisch progredienten Verdünnungsreihe verarbeitet. Aus jeder Probe wurde mittels geeichter Tropfpipette 1 Tropfen in ein frisches Röhrchen übergebracht. Dazu wurden 1 Tropfen Meerschweinchenkomplement[6)] (mit Liebermeierpuffer 1 : 20 verdünnt) und 1 Tropfen Antigensuspension gegeben.

    Herstellung der Antigensuspension: 1 Teil Gewebe + 4 Teile 0,9 % NaCl-Lösung mit Rührer[7)] ("Potter") homogenisiert; 1 Teil Homogenisat mit 9 Teilen Liebermeierpuffer verdünnt; also Endverdünnung des Antigens 1 : 50. Anschließend 90 min Inkubation im Brutschrank bei 37°C. Hierauf wurden in jedes inkubierte

---

1) Osmometer Dr.-Ing. H. Knauer, Berlin
2) Biochemica-Test-Combination, Boehringer Mannheim GmbH
3) Flammenphotometer Eppendorf
4) "Feine Federwaage", Original "Rebüre" (Höchstbelastung 5 kg)
5) August Sauter KG, Ebingen (Württemberg)
6) Hyland, Los Angeles
7) Fa. B. Braun, Melsungen

Röhrchen 0,1 ml des Amboceptorsystems und 0,5 ml Liebermeierpuffer dazupipettiert. Danach erneute Inkubation im Brutschrank (37°C, 40 min). Der gesuchte Wert war der Titer, der 1 Stufe unter dem Titer der ersten hämolytischen Probe lag. Entsprechende Serum-, Antigen-, Komplement- und Hammelblutkontrollen sicherten die Ergebnisse.

Herstellung des Amboceptorsystems: Hammelblut wurde 2-mal mit 0,9 % Kochsalzlösung gewaschen (5 min, 3000 U/min). Dann wurde eine beliebige Hammelerythrozytenmenge mit Liebermeierpuffer auf 70 (a) ml aufgefüllt. Die Extinktionsmessung ($\triangle$ E) des freien Hb in 0,5 ml dieses Gemisches, auf 10 ml mit Acqua bidest. aufgefüllt, gegen Aqua bidest. schloß sich an. Aus der Gleichung $x = \triangle E \times a/0,565$ errechnete sich die Menge x, auf die die anfangs gewählte Erythrozytenmenge eingestellt werden mußte. Die anschließende Inkubation eines Gemisches von 1 Teil Schafshämolysin[1)], 3 Teilen Liebermeierpuffer und 4 Teilen eingestellter Erys (40 min, 37°C) ergab das fertige Amboceptorsystem.

13. Testung auf Schweineerythrozyten und -Leukozyten agglutinierende Antikörper im Hundeserum:

Hämagglutinationstest: Mit 0,1 ml Serum (30 min im Wasserbad bei 56°C inaktiviert) und physiologischer Kochsalzlösung als Verdünnungsmedium (0,1 ml je Röhrchen) wurde in Glasröhrchen (lichte Weite 0,8 cm) eine geometrisch progrediente Verdünnungsreihe hergestellt. Als Antigen wurden 0,1 ml Schweineerythrozytensuspension (4 Teile tagfrisches Schweineblut wurden mit 1 Teil EDTA gemischt; nach Abzentrifugation der Erys-5 min bei 3000 U/min-2-maliges Waschen der Erys mit 0,9 % Kochsalzlösung 5 min bei 3000 U/min; 0,1 ml der gewaschenen Erys mit physiolog. Kochsalzlösung auf 50 ml zur fertigen Suspension aufgefüllt) jedem Röhrchen zugesetzt. Nun Inkubation im Brutschrank (37°C, 90 min), danach 30 min bei 4°C. Die Titer wurden mikroskopisch bestimmt. Hierzu wurden die Proben gut aufgeschüttelt, auf einem Objektträger verteilt und begutachtet (Vergrößerung 40 x). Positiv waren die Verdünnungsstufen, bei denen wenigstens 6 Agglutinate à mindestens 3 Erythrozyten pro Gesichtsfeld zu sehen waren. Die positive Probe mit dem höchsten Titer ergab den gesuchten Wert.

---

1) Hyland, Los Angeles

Leukoagglutinationstest: Dieser Test unterschied sich lediglich in 2 Punkten von der Durchführung des Hämagglutinationstestes:

1. Verwendung von tagfrischen Schweineleukozyten (4 Teile Schweineblut werden mit jeweils 1 Teil EDTA und 3 % Dextranlösung-mittl. MGW 300.000-versetzt; anschließend 40-minütige Dextransedimentierung des Schweineblutes und Aufnahme des leukozytenhaltigen Plasmaüberstandes mit einer Pipette); Optimalkonzentration: 4.000 - 8.000 Leukozyten/mm^3.
2. Als Verdünnungsmedium wurde Hank'sche Lösung verwendet.

Entsprechende Kontrollen von Verdünnungsmedium und Zellsuspension sicherten die Wertigkeit der Häm- und Leukoagglutinationsteste.

V. Berechnungen

1. Sauerstoffverbrauch der Schweineniere:

$Hb \cdot RBF = Hb_{abs}$ g/min/100g Niere

$Hb_{abs} \cdot 1{,}34 \cdot AVD_{O_2}renal \approx O_2$-Verbrauch der Schweineniere ml/min/100g Niere

($AVD_{O_2}renal$ = renale arteriovenöse Differenz der Hb-Sauerstoffsättigung)

2. Absolutwerte von GOT, GPT und LDH im Urin:

$Urinfluß_t \cdot Urinenzymkonzentration_t$ = Enzymausscheidung/Zeiteinheit zum Zeitpunkt t im Urin mU/min/100g Niere

VI. Versuchsgruppen

1. In-vivo-Perfusionen

19 Schweinenieren wurden von Empfängerhunden in vivo perfundiert.

a) Kontrollversuche

10 Schweinenieren wurden von unbehandelten Hunden perfundiert. Hiervon wurden 9 Schweinenieren extrakorporal und 1 intrakorporal (nach Anastomosierung mit den

Tabelle 1: Übersicht über die Versuchsgruppen

	Gruppe	Nr.d. Versuche	Vorperfusion der Niere Volumen	Vorperfusion der Niere Zusammensetzung	Vorbehandlg. d. Hundes	System Typ
Kontrollversuche	Transplantation (n = 1)	19	-	-	-	intrakorporal
	Basislösung-Kontrollen (n = 2)	17,18	200 ml	Basislös.[1]	-	extrakorporal
	modifizierte Basislösung-Kontrollen (n = 7)	10-16	1000 ml	Basislös.[1] 5000 I.E. Heparin[2] 500 mg Procain 4,8 mVal HCO_3	-	extrakorporal
Versuche mit Vorbehandlg. d. Hundes	Hämodilution (n = 7)	1-7	1000 ml	Basislös.[1] 5000 I.E. Heparin[2] 500 mg Procain 4,8 mVal HCO_3	Hämodilution	extrakorporal
	Hämodilution-ALS (n = 1)	8	1000 ml	Basislös.[1] 5000 I.E. Heparin[2] 500 mg Procain 4,8 mVal HCO_3	Hämodilution ALS	extrakorporal
	Hämodilution-Cyclophosphamid (n = 1)	9	1000 ml	Basislös.[1] 5000 I.E. Heparin[2] 500 mg Procain 4,8 mVal HCO_3	Hämodilution Cyclophosphamid[3]	extrakorporal

1) Fresenius KG, Chem.-Pharm. Industrie, Bad Homburg v.d.H.

2) Heparin-Novo R , Novo-Industrie GmbH, Mainz

3) Endoxan R , Asta Werke AG, Brackwede (Westfalen)

Iliacalgefäßen - Arterie End-zu-End, Vene End-zu-Seit - des Empfängers) perfundiert.

2 der extrakorporal perfundierten Nieren waren mit 200 ml einer 4°C kalten Basislösung[1] vorperfundiert worden. 7 extrakorporal perfundierte Nieren waren mit 1.000 ml einer 4°C kalten Basislösung[1], die zusätzlich 5.000 I.E. Heparin[2], 500 mg Procain und 4,8 mVal HCO_3 enthielt, vorperfundiert worden. Die intrakorporal perfundierte Niere war nicht vorperfundiert worden.
Die Kontrollversuche sind in Tabelle 1 zusammengestellt.

b) Versuche mit Vorbehandlung

9 Schweinenieren wurden von hämodiluierten Hunden extrakorporal perfundiert.
2 der Empfänger waren zusätzlich vorbehandelt worden, einer mit Antilymphozytenserum (ALS), der andere mit Cyclophosphamid[3].
Alle Nieren waren mit 1.000 ml einer 4°C kalten Basislösung[1], die zusätzlich 5.000 I.E. Heparin[2], 500 mg Procain und 4,8 mVal HCO_3 enthielt, vorperfundiert worden.
Die Versuche mit Vorbehandlung sind in Tabelle 1 zusammengestellt.

2. Vorperfusionskontrollen

4 Schweinenieren wurden kalt vorperfundiert und anschließend für histologische Untersuchungen fixiert. Die Perfusion durch Empfängerhunde entfiel. Warme und kalte Anoxiezeit betrugen insgesamt 75 min.
2 der 4 Nieren wurden mit 200 ml einer 4°C kalten Basislösung[1] vorperfundiert. Die anderen 2 Nieren wurden mit 1.000 ml einer 4°C kalten Basislösung[1], die zusätzlich 5.000 I.E. Heparin[2], 500 mg Procain und 4,8 mVal HCO_3 enthielt, vorperfundiert.

---

1) Fresenius KG, Chem.-Pharm. Industrie, Bad Homburg v.d.H.
2) Heparin-Novo R, Novo-Industrie GmbH, Mainz
3) Endoxan R, Asta Werke AG, Brackwede (Westfalen)

VII. Versuchsablauf

Nach einer Gesamtanoxiezeit (= Summe der warmen und kalten Anoxiezeit) von 76,3 ± 3,2[1] min wurden die Schweinenieren in den Kreislauf der Empfänger eingeschaltet. Blutproben wurden am venösen Schenkel (für HbO_2-Bestimmungen auch am arteriellen Schenkel) des Perfusionssystems abgenommen. Soweit möglich, wurde Urin synchron mit den Blutproben entnommen. Die Abnahmen erfolgten in den

Versuchen Nr. 1 - 9: (vorbehandelte Hunde)	2 min nach Beginn der warmen Perfusion, 5 min, 10 min, 20 min, 30 min, 45 min, 1 h, 2 h, 3 h, 4 h, 5 h, 8 h etc.
Versuchen Nr. 10 - 18: (Kontrollen)	2 min nach Beginn der warmen Perfusion, 5 min, 10 min, 20 min, 30 min, 40 min, 45 min, 60 min, 75 min etc.

(Für die Bestimmung von Ausgangswerten wurde Blut aus der A. femoralis der Empfänger vor Versuchsbeginn entnommen. Hämodiluierten Hunden wurde außerdem Blut nach Erreichen des Hämatokrittiefstwertes abgenommen).

Während der Versuche wurden die makroskopischen Veränderungen der Nieren kontrolliert und protokolliert. Volumenverluste der Hunde wurden durch 6 %-Dextran-60-Lösung[2] bzw. 0,9 % Kochsalzlösung ersetzt. Bei hämodiluierten Hunden wurden autologe Erythrozyten nach zweimaligem Waschen (2 x 10 min bei 3.000 U/min) in physiologischer Kochsalzlösung reinfundiert, so daß Hämatokritwerte von mindestens 15 % eingehalten werden konnten. Die in-vivo-Perfusionen wurden beendet, wenn die Nieren vollständig abgestoßen waren, was nach unserer Definition bei einem RBF = 0 ml/min/100 g Nierengewebe der Fall war.

---

1) Mittelwert ± mittl. Fehler des Mittelwertes

2) Macrodex®, Fa. Knoll AG, Ludwigshafen/Rhein

C. ERGEBNISSE

Die Abstoßung einer Schweineniere war nach unserer Definition vollständig, wenn der renale Blutfluß (RBF) zum Erliegen gekommen war, d. h. 0 ml/min/100 g Nierengewebe betrug.

I. Die Abstoßung von Schweinenieren durch unbehandelte Hunde

1. Verhalten der Nierendurchblutung und des Nierengewichts

In Nieren, die mit modifizierter Basislösung vorperfundiert worden waren, sistierte die Durchblutung nach 107,1 ± 24,7 min. Wenn die Konservierungslösung ohne Zusätze angewendet wurde, war dies bereits nach 17,5 ± 7,5 min der Fall, ohne Vorperfusion schon nach 8 min.

In Tabelle 2 ist das Verhalten des RBF während extrakorporaler in-vivo-Perfusion von 4 vorperfundierten Nieren durch unbehandelte Hunde dargestellt. Es konnten keine Anstiege des RBF nach Versuchsbeginn festgestellt werden, vielmehr zeigten sich kontinuierliche Abnahmen des RBF. Auffallend war die verzögerte Abnahme der renalen Durchblutung nach Modifikation der kalten Vorperfusionslösung.

Tabelle 2: Verhalten des RBF bei extrakorporaler in-vivo-Perfusion von Schweinenieren durch unbehandelte Hunde. Messung im venösen Teil des Perfusionssystems. Werte in ml/min/100 g Niere.

	modifizierte Basislösung-Kontrollen		Basislösung-Kontrollen	
Versuch-Nr.	15	16	17	18
Perfusionszeit	RBF (ml/min/100 g Niere)			
2'	30,4	26,5	36,6	21,0
5'			30,0	14,0
10'	28,7	9,6	23,4	3,0
20'			9,5	
30'	6,1	7,0		
45'	1,0	6,5		
1 h	0,6	5,2		
2 h		3,2		
3 h		0,7		

In 2 Kontrollversuchen mit Anwendung modifizierter Basislösung sowie in den beiden Versuchen, in denen die Nieren nur mit Basislösung vorperfundiert waren, wurden vor Versuchsbeginn und nach Versuchsende Nierengewichtsbestimmungen durchgeführt. Die Nieren wogen vor Versuchsbeginn bei Vorperfusion mit modifizierter Basislösung 230,0 ± 0,0 g, nach Versuchsende 407,5 ± 7,5 g, bei Vorperfusion mit Basislösung 190,0 ± 10,0 g bzw. 215,0 ± 15,0 g.

2. Verhalten einiger Nierenfunktionskriterien

a) Renale Sauerstoffaufnahme

Infolge unverminderter Sauerstoffkapazität erreichten die Nieren bei extrakorporalen Kontrollperfusionen relativ hohe Sauerstoffaufnahmewerte, in Versuch 17 etwa 50 % des Normalwertes. Bemerkenswert erscheint, daß die renale Sauerstoffaufnahme stets zunächst zunahm, nach 5 - 10 min ein Maximum erreichte und dann abfiel. In Tabelle 3 ist die Sauerstoffaufnahme extrakorporal perfundierter Nieren bei unbehandelten Hunden eingetragen.

Tabelle 3: Verhalten der renalen Sauerstoffaufnahme bei extrakorporaler in-vivo-Perfusion von Schweinenieren durch unbehandelte Hunde. Werte in ml/min/100 g Niere.

	modifizierte Basislösung-Kontrollen		Basislösung-Kontrollen	
Versuch-Nr.	15	16	17	18
Perfusionszeit	renale Sauerstoffaufnahme (ml/min/100 g Niere)			
2'	0,85	1,05	1,24	1,18
5'			2,27	1,62
10'	1,77	1,20	2,87	0,48
20'			1,07	
30'	0,40	0,92		
45'	0,09	0,80		
1 h	0,04	0,66		
2 h		0,45		
3 h		0,13		

b) Urinproduktion

aa) Gesamtvolumina

In allen Versuchen wurde die Gesamtproduktion an Urin bestimmt. Nieren, die mit modifizierter Basislösung vorperfundiert worden waren, schieden in 107,1 ± 24,7 min insgesamt 13,2 ± 8,4 ml Urin aus. Nieren, die nur mit Basislösung vorperfundiert worden waren, produzierten dagegen keinerlei Urin, ebenso die transplantierte Niere, die nach 8 min abgestoßen wurde.

bb) Urinfluß

Der einzige Kontrollversuch mit nennenswerter Urinausscheidung war Versuch Nr. 10 (modifizierte Basislösung-Kontrolle). Diese Niere produzierte in 200 min 60,5 ml; das Urinflußmaximum wurde 60 min nach Beginn der in-vivo-Perfusion erreicht. In einem anderen Versuch dieser Gruppe (Nr. 15) wurde bei einem Uringesamtvolumen von 15,5 ml, das innerhalb von 75 min produziert worden war, nach 45 min und 1 h ein Urinfluß von 0,12 bzw. 0,06 ml/min/100 g Niere gemessen.

cc) Verhältnis Urinosmolarität/Serumosmolarität

Die Bestimmung des Quotienten Urinosmolarität/Serumosmolarität ergab in dem Kontrollversuch mit nennenswerter Urinausscheidung (modifizierte Basislösung-Kontrolle, Nr. 10) keinen Hinweis auf Konzentrationsarbeit des Nierenparenchyms. Nach 20 min in-vivo-Perfusion konnte der erste Urin gesammelt werden. Hierin fanden wir einen U/S-Quotienten von 1,14; in den 30'-, 45'-, 1 h-, 2 h- und 3 h-Urinen wurde ein Quotient von 1,05, 1,07, 1,05, 1,03 bzw. 1,02 gemessen.

c) Ausscheidung von Natrium und Kalium im Urin

Ein Vergleich der Natriumkonzentrationen in Serum und Urin in Versuch Nr. 10 (modifizierte Basislösung-Kontrolle) zeigt, daß alle Na-Werte im Urin deutlich unter den entsprechenden Serumkonzentrationen lagen.

Im gleichen Versuch wurden bei Beginn der Urinausscheidung hohe Kaliumkonzentrationen im Harn gefunden. Mit zunehmender Dauer der in-vivo-Perfusion sanken die

K-Werte. Im Serum konnte bei diesem Versuch nach Beginn der extrakorporalen Perfusion eine Zunahme der Kaliumkonzentration gemessen werden. Mit fortschreitender Versuchsdauer nahm die Serumkonzentration des Kaliums ab.
In Tabelle 4 ist der Verlauf der Natrium- und Kaliumkonzentrationen in Serum und Urin bei extrakorporaler Perfusion einer mit modifizierter Basislösung vorperfundierten Niere durch einen unbehandelten Hund eingetragen.

Tabelle 4: Verlauf der Natrium- und Kaliumkonzentrationen in Serum (S) und Urin (U) bei extrakorporaler in-vivo-Perfusion einer mit modifizierter Basislösung vorperfundierten Schweineniere durch einen unbehandelten Hund. Werte in mVal/l.

	modifizierte Basislösung-Kontrolle			
Versuch Nr.	10		10	
Bestimmung in	S	U	S	U
Perfusionszeit	Na (mVal/l)		K (mVal/l)	
Ausgangswert	160,0		5,0	
45'	160,0	132,5	7,0	10,2
1 h	160,0	132,5	6,5	8,9
2 h	160,0	140,0	6,3	7,5

d) Eiweißausscheidung im Urin

Alle Urine, die von Nieren ausgeschieden wurden, die mit modifizierter Basislösung vorperfundiert worden waren, enthielten Eiweiß. Die Eiweißverluste stiegen im Laufe der Versuche in kürzester Zeit an; als Beispiel sei Versuch 15 angeführt: 45 min nach Beginn der in-vivo-Perfusion betrug der Serumeiweißspiegel 4,1 g%, im Urin fanden sich 2,8 g% Eiweiß; 15 min später war der Urineiweißspiegel trotz konstant gebliebener Serumeiweißkonzentration auf 5,4 g% angestiegen.

e) Erythrozytenausscheidung im Urin

Die Erythrozyten wurden im Urin bei Versuch Nr. 10 (modifizierte Basislösung-Kontrolle) ausgezählt. Der 45-Minuten-, 1-Stunden- bzw. 2-Stunden-Urin enthielt 30.000, 80.000 bzw. 50.000 Erys/mm^3 Urin.

f) Renale Freisetzung von Enzymen

aa) Verhalten der LDH in Serum und Urin

Die renale Freisetzung von Lactatdehydrogenase wurde bei der in-vivo-Perfusion von je 2 Nieren, die mit modifizierter bzw. nur mit Basislösung vorperfundiert worden waren, studiert. In Tabelle 5a ist das Verhalten der LDH-Konzentrationen im postrenalen Serum und Urin während dieser Versuche zusammengestellt. LDH-Konzentrationsanstiege wurden im postrenalen Serum von Hunden, die mit modifizierter Basislösung vorperfundierte Nieren durchströmten, erstmals nach 30 min meßbar. Während der hyperakuten Abstoßung mit Basislösung vorperfundierter Nieren wurden keine Veränderungen der LDH-Konzentration im postrenalen Serum der Empfänger festgestellt. Die LDH-Konzentration im Urin der xenoperfundierten Nieren lag über den entsprechenden Serumwerten. Die Berechnung der im Urin ausgeschiedenen LDH

Tabelle 5a: Verhalten der LDH-Konzentrationen im postrenalen Serum (S) und Urin (U) bei extrakorporaler in-vivo-Perfusion von Schweinenieren durch unbehandelte Hunde. Werte in mU/ml.

	modifizierte Basislösung Kontrolle				Basislösung-Kontrolle	
Versuch-Nr.	15		16		17	18
Bestimmung in	S	U	S	U	S	S
Perfusionszeit	LDH-Konzentrationen (mU/ml)					
Ausgangswert	98		127		191	178
5'	96		127		143	175
20'					143	
30'	112		207			
45'	160	430				
1 h	223	382	239			
3 h			733	1146		

Tabelle 5b: LDH-Absolutwerte im Urin (U) bei extrakorporaler in-vivo-Perfusion von mit modifizierter Basislösung vorperfundierten Schweinenieren durch unbehandelte Hunde. Werte in mU/min/100 g Niere.

	modifizierte Basislösung-Kontrolle	
Versuch Nr.	15	16
Bestimmung in	U	U
Perfusionszeit	LDH-Absolutwerte (mU/min/100 g Niere)	
Ausgangswert		
5'		
20'		
30'		
45'	52	
1 h	22	
3 h		83

pro Zeit- und Gewichtseinheit ergab, soweit Folgerungen aus den spärlichen Ergebnissen berechtigt sind, daß die LDH-Verluste im Urin anfangs hoch sind und im weiteren Versuchsverlauf abnehmen (siehe Tabelle 5b).

bb) Verhalten der GOT in Serum und Urin

Die renale Freisetzung von Glutamat-Oxalacetat-Transaminase wurde bei der in-vivo-Perfusion von je 2 Nieren, die mit modifizierter bzw. nur mit Basislösung vorperfundiert worden waren, verfolgt. In Tabelle 6a ist das Verhalten der GOT-Konzentrationen im postrenalen Serum und Urin während dieser Versuche zusammengestellt. 45 bzw. 60 min nach Beginn der in-vivo-Perfusion von Nieren, die mit modifizierter Basislösung vorperfundiert worden waren, durch unbehandelte Hunde stieg die GOT-Konzentration im postrenalen Serum der Empfänger an. Nur mit Basislösung vorperfundierte Nieren verursachten keine Änderungen der GOT-Konzentration im Serum während der Xenoperfusion durch unbehandelte Hunde. Eine Umrechnung der GOT-Konzentrationen im Urin zeigte, daß die GOT-Ausscheidung im Harn zunächst hoch ist, später aber abnimmt. Diese Befunde sind in Tabelle 6b eingetragen.

Tabelle 6a: Verhalten der GOT-Konzentrationen im postrenalen Serum (S) und Urin (U) bei extrakorporaler in-vivo-Perfusion von Schweinenieren durch unbehandelte Hunde. Werte in mU/ml.

	modifizierte Basislösung-Kontrolle				Basislösung-Kontrolle	
Versuch Nr.	15		16		17	18
Bestimmung in	S	U	S	U	S	S
Perfusionszeit	GOT-Konzentrationen (mU/ml)					
Ausgangswert	34		37		22	37
5'	26		37		22	22
20'					34	
30'	26		34			
45'	41	164				
1 h	63	112	75			
3 h			381	274		

Tabelle 6b: GOT-Absolutwerte im Urin (U) bei extrakorporaler in-vivo-Perfusion von mit modifizierter Basislösung vorperfundierten Schweinenieren durch unbehandelte Hunde. Werte in mU/min/100 g Niere.

	modifizierte Basislösung-Kontrolle	
Versuch Nr.	15	16
Bestimmung in	U	U
Perfusionszeit	GOT-Absolutwerte (mU/min/100 g Niere)	
Ausgangswert		
5'		
20'		
30'		
45'	19	
1 h	7	
3 h		20

cc) Verhalten der GPT in Serum und Urin

Bei der in-vivo-Perfusion von je 2 Nieren, die mit modifizierter bzw. nur mit Basislösung vorperfundiert worden waren, wurden postrenale Seren und Urine auf Veränderungen des GPT-Spiegels untersucht. In Tabelle 7a und 7b sind die Ergebnisse der GPT-Bestimmung in Relativ- und Absolutwerten eingetragen. Es konnten in keinem Versuch progrediente Zunahmen der Serum-GPT-Konzentration gemessen werden. Der 3 h-Wert in Versuch 16 stellt eine Ausnahme dar. Die Urin-GPT-Konzentrationen blieben, soweit bestimmbar, konstant. Die renale Ausscheidung an GPT war, verglichen etwa mit den GOT-Verlusten, minimal.

Tabelle 7a: Verhalten der GPT-Konzentrationen im postrenalen Serum (S) und Urin (U) bei extrakorporaler in-vivo-Perfusion von Schweinenieren durch unbehandelte Hunde. Werte in mU/ml.

	modifizierte Basislösung-Kontrolle				Basislösung-Kontrolle	
Versuch Nr.	15		16		17	18
Bestimmung in	S	U	S	U	S	S
Perfusionszeit	GPT-Konzentrationen (mU/ml)					
Ausgangswert	19		22		11	19
5'	37		22		11	11
20'					11	
30'	11		37			
45'	11	11				
1 h	7	11	26			
3 h			52	26		

Tabelle 7b: GPT-Absolutwerte im Urin (U) bei extrakorporaler in-vivo-Perfusion von mit modifizierter Basislösung vorperfundierten Schweinenieren durch unbehandelte Hunde. Werte in mU/min/100 g Niere.

	modifizierte Basislösung-Kontrolle	
Versuch Nr.	15	16
Bestimmung in	U	U
Perfusionszeit	GPT-Absolutwerte (mU/min/100 g Niere)	
Ausgangswert		
5'		
20'		
30'		
45'	1,0	
1 h	0,6	
3 h		2

3. Bestimmung humoraler Antikörper gegen Schweinenierengewebe,-Erythrozyten und-Leukozyten in Seren unbehandelter Hunde

a) Bestimmung komplementbindender Anti-Schweinenieren-Antikörper

Der Titerverlauf komplementbindender Anti-Schweinenieren-Antikörper wurde während der in-vivo-Perfusion von 3 Nieren, die mit modifizierter Basislösung vorperfundiert worden waren, bzw. von 2 Nieren, die nur mit Basislösung konserviert worden waren, studiert. Aus Tabelle 8 ist ersichtlich, daß die Titer der komplementbindenden Anti-Spendernieren-Antikörper der Hunde während der extrakorporalen in-vivo-Perfusionen nicht wesentlich von den Ausgangstitern abwichen.

Tabelle 8: Titerverlauf komplementbindender Anti-Schweinenieren-Antikörper im Hundeserum während extrakorporaler in-vivo-Perfusion von Schweinenieren durch unbehandelte Hunde. Werte reziprok.

	modifizierte Basislösung-Kontrolle			Basislösung-Kontrolle	
Versuch Nr.	14	15	16	17	18
Perfusionszeit	Komplementbindende Antikörper gegen Nierengewebe (Titer 1:)				
Ausgangswert	64	32	64	32	32
2'	64				
5'	32	32	64		32
10'	32	32	64	64	32
20'	128			32	
30'	64	32	64		
40'	16				
45'	32	16			
1 h	64	32	32		
75'	32		32		
90'	32		64		
105'	32		64		

b) Bestimmung von Anti-Schwein-Hämagglutininen

Anti-Schwein-Hämagglutinine wurden in den Seren aller unbehandelten Hunde bestimmt, die extrakorporal Schweinenieren perfundierten. Ein Vergleich der Ausgangstiter vor Versuchsbeginn mit den Titerverläufen während der Versuche ergab keine Anhaltspunkte für abrupt eintretende Titerveränderungen. In einem Versuch (10) - bei der Perfusion einer mit modifizierter Basislösung vorperfundierten Niere - konnten wir gegen Versuchsende abnehmende Tendenzen im Titerverlauf nachweisen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 9 zusammengefaßt.

Tabelle 9: Titerverlauf agglutinierender Antikörper gegen Schweineerythrozyten im Hundeserum bei extrakorporaler in-vivo-Perfusion von Schweinenieren durch unbehandelte Hunde. Werte reziprok.

	modifizierte Basislösung-Kontrolle							Basislösung-Kontrolle	
Versuch-Nr.	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Perfusionszeit	Agglutinierende Antikörper gegen Erythrozyten (Titer 1:)								
Ausgangswert	16	2	8	8	32	8	16	16	32
2'		1	16	8	32				
5'	16				32	16	16	8	16
10'	8	2		4	32	8	8	16	16
20'	8	2	32	1	32			8	
30'	8	2	16	4	32	8	8		
40'	8	1	32		32				
45'	16	0	16		32	8	8		
1 h	8	0			32	16	8		
75'					32		16		
90'	16				32		8		
105'					32		16		
2 h	4								
3 h	4						8		

c) Bestimmung von Schweineleukozyten agglutinierenden Antikörpern

Schweineleukozyten agglutinierende Antikörper in Seren unbehandelter Hunde wurden bei allen extrakorporalen Kontrollperfusionen gemessen. Das Verhalten der Titer im Verlauf dieser Experimente läßt, wie aus Tabelle 10 ersichtlich, keine Beeinflussung durch das Versuchsmodell erkennen.

Tabelle 10: Titerverlauf agglutinierender Antikörper gegen Schweineleukozyten im Hundeserum bei extrakorporaler in-vivo-Perfusion von Schweinenieren durch unbehandelte Hunde. Werte reziprok.

	modifizierte Basislösung-Kontrolle							Basislösung-Kontrolle	
Versuch Nr.	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Perfusionszeit	Agglutinierende Antikörper gegen Leukozyten (Titer 1:)								
Ausgangswert	2	0	0	2	8	16	16	16	16
2'	1	0	2		8				
5'	2				16	8	16	32	16
10'	2	0			16	16	16	64	16
20'	2	0	4		32			32	
30'	4	0	4	4	16	32	16		
40'	2	0	2		16				
45'	4	0	2		16	16	32		
1 h	4	0			32	32	16		
75'					16		32		
90'	2				16		16		
105'					16		32		
2 h	1								
3 h	0								

4. Pathologische Befunde an Schweinenieren vor, während und nach der in-vivo-Perfusion durch unbehandelte Hunde

a) Makroskopische Veränderungen

Nach hypothermer Vorperfusion mit 200 ml nicht modifizierter bzw. 1000 ml modifizierter Basislösung erschien die Nierenoberfläche einheitlich beige. Bei Eröffnung des Nierenbeckens imponierten die Markkegel nach Vorperfusion mit 200 ml Basislösung hellrot, während die Rinde beige war. Nach Vorperfusion mit 1000 ml modifizierter Basislösung war die Nierenrinde beige gefärbt; die Markkegel hoben sich dagegen weiß ab.

Nach Restitution der renalen Durchblutung war die Oberfläche der Nieren nur etwa

5 min normal gefärbt. Es traten sehr schnell disseminiert unscharf begrenzte, dunkelrosa bis livide Flecken auf, die sich teils vergrößerten und konfluierten, teils an Intensität scheinbar abnahmen, da dieser Prozeß allmählich durch eine generalisiert auftretende cyanotische Verfärbung der Nieren überlagert wurde. Innerhalb von 30 min waren die Nieren dunkelblaurot.
Bei Versuchsende fielen immer ein erhöhter Turgor, die tiefblaue Verfärbung und eine deutliche Gewichtszunahme auf. Bei Betrachtung der Schnittfläche imponierte die hämorrhagische, dunkelrote Verfärbung von Mark und Rinde. Die großen arteriellen und venösen Gefäßäste waren in jedem Fall frei durchgängig.
Von diesen Befunden, die für alle durch unbehandelte Hunde extrakorporal perfundierten Nieren typisch waren, unterschied sich die transplantierte Niere erheblich. Nach Öffnen der Gefäßklemmen traten bis zum Sistieren des RBF keine makroskopisch erkennbaren, pathologischen Veränderungen auf. Die Schnittfläche bot das Bild einer normal durchbluteten Niere.

b) Mikroskopische Veränderungen[+)]

In Tabelle 11 sind die wesentlichen path.-histolog. Veränderungen der Nieren in unseren Kontrollversuchen zusammengestellt.
Die Vorperfusionskontrollversuche zeigten sowohl die hohe Effektivität der Methode bei der Ausspülung von Schweineerythrozyten, als auch die leichte hypox'sche Schädigung des Tubulussystems während der Ischämiezeit. Durch ausgiebigere und modifizierte Vorperfusion konnte die Ausschwemmung von Schweineerythrozyten gesteigert werden. Die hypoxische Schädigung des Tubulussystems vor Beginn der in-vivo-Perfusion manifestierte sich u. a. als Dilatation der Tubuli, Ablagerung desquamierter Epithelien und amorphen Materials, Abflachung der Tubulusepithelien und Potozytose. Insgesamt boten die vorperfundierten Nieren ein der Schockniere sehr ähnliches Bild. Die Veränderungen können als reversibel bezeichnet werden.

[+)] Für die histologischen Befunde und Abbildungen bin ich Herrn Dr. Pielsticker vom Patholog. Institut der Universität München sehr zu Dank verpflichtet, ebenso Herrn Prof. Dr. Bohle, Tübingen.

Tabelle 11: Zusammenstellung path.-histologischer Veränderungen an Schweinenieren bei Kontrolle der Vorperfusionstechnik mit 200 ml Basislösung bzw. 1000 ml modifizierter Basislösung, nach Abstoßung durch unbehandelte Hunde bei Vorperfusion mit Basislösung, modifizierter Basislösung und bei Weglassen der Vorperfusion (Transplantat). + = gut erhalten, (+) = nicht sicher nachweisbar, - = fehlt bzw. zerstört, (-) = Zerstörung nicht sicher nachweisbar.

	GLOMERULUM						TUBULUS	INTERSTITIUM	
GRUPPE	Kapillar-lumen	Endothel	Basalmembran	Mesan-gium	Deckepi-thelien	Bowman-Kapselr.	Lumen Epithel	intertubuläre Kapillaren	Stroma
1. Vorperfusions-kontrolle (Basislös. 200 ml)	Kollaps Blutleer	+	+	+	+	relative Erweiterung	leichte hypoxi-sche Schäden	Blutarm	Mastzel-len
2. Vorperfusions-kontrolle (modifiz. Basis-lös. 1000 ml)	Kollaps Blutleer	+	+	+	+	relative Erweiterung	leichte hypoxi-sche Schäden	Blutleer	Mastzel-len
3. Basislös.-Kontrolle	Hyperämie Granulozy-ten	(+) -	+ (-)	(+) -	+	+	schwere hypo-xische Schäden Ablagerungen	Hyperämie	Rundzell-infiltrate
4. modifiz. Basislös.-Kontrolle	Hyperämie Granulocy-ten	(+) -	+ (-)	(+) -	+	Ablagerung (sporadisch)	schwere hypo-xische Schäden Ablagerungen	Hyperämie Granulo-cyten	Rundzell-infiltrate
5. Trans-plantat	+	+	+	+	+	+	leichte hypoxi-sche Schäden	Stase (fleckförmig)	+

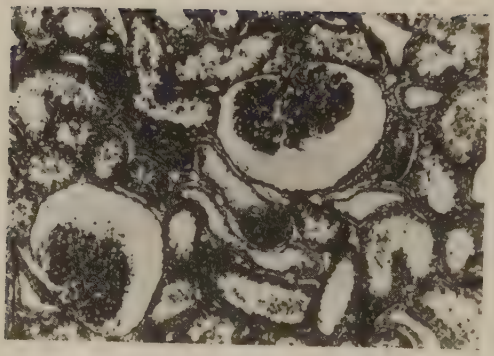

Abbildung 2: Zustand einer Schweineniere nach Vorperfusion mit 1000 ml modifizierter Basislösung (4^{o}C). Warme und kalte Anoxiezeit insgesamt 75 min. Gomori-Färbung (Dr. Pielsticker).

Sowohl in den mit modifizierter als auch in den nur mit Basislösung vorperfundierten Nieren wurden nach Abstoßung durch unbehandelte Hunde Schäden am Mesangium und Endothel gefunden; teilweise konnten Mesangium und Endothel nicht mehr dargestellt werden. Das parietale und viscerale Blatt der Bowman'schen Räume waren immer gut erhalten. Eine Hyperämie der Glomerulum- und intertubulären Kapillaren war fast ausnahmslos vorhanden. Unterschiedliche Befunde ergaben sich hinsichtlich granulozytärer Elemente. Granulozyten waren in drei Nieren (2 hiervon waren mit modifizierter, 1 nur mit Basislösung vorperfundiert) vermehrt nachweisbar. Die segmentkernigen Granulozyten waren immer in den Glomerulumkapillaren, in einer Niere auch in den intertubulären Kapillaren lokalisiert. In mehreren Nieren - teils mit modifizierter, teils nur mit Basislösung vorperfundiert - sah man interstitielle Rundzellinfiltrate, die bevorzugt perivasculär lagen. In einer Niere, die mit modifizierter Basislösung vorperfundiert worden war, wurde in den Glomerulumkapillaren Fibrin nachgewiesen (Nr. 10). Fragliche Thrombocytenansammlungen ergaben sich in einem anderen Versuch dieser Gruppe (Nr. 14). Insgesamt entsprachen die path.-histolog. Veränderungen der mit modifizierter bzw. nur mit Basislösung vorperfundierten Nieren nach Abstoßung durch unbehandelte Hunde teils

eher einem akuten Nierenversagen, teils einer typischen Abstoßungsreaktion. Erstaunlich gering waren hingegen die Veränderungen im mikroskopischen Präparat einer nicht vorperfundierten, transplantierten Niere. Abgesehen von herdförmig auftretenden Zeichen eines akuten Nierenversagens nach Anoxie, zeigten sich keine wesentlichen pathologischen Befunde. Auffallend waren die im Vergleich zu den Markkanälchen enggestellten Rindenharnkanälchen.

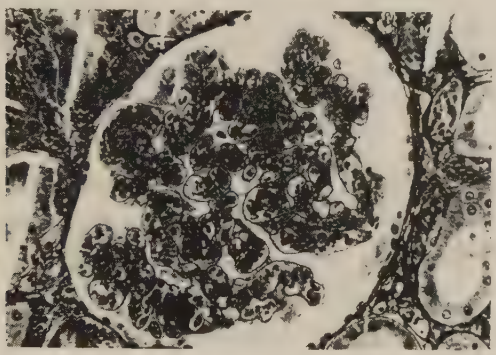

Abbildung 3: Zustand einer Schweineniere nach Vorperfusion mit 1000 ml modifizierter Basislösung (4 °C). Warme und kalte Anoxiezeit insgesamt 85 min. 195 min in-vivo-Perfusion durch einen unbehandelten Hund. Gomori-Färbung (Dr. Pielsticker).

II. Die Verzögerung der Abstoßung von Schweinenieren durch Hunde bei Vorbehandlung der Empfänger

Die Auswertung des Hämodilutionsversuches mit Antilymphocytenserumvorbehandlung erfolgt gemeinsam mit den Hämodilutionsversuchen ohne zusätzliche Vorbehandlung. Der Hämodilutionsversuch mit Cyclophosphamid-Praemedikation wird gesondert besprochen.

1. Verhalten der Nierendurchblutung und des Nierengewichts

In Nieren, die von hämodiluierten Hunden perfundiert wurden, sistierte die Durchblutung nach 662,5 ± 126,8 min (n = 8). In 3 Versuchen dieser Gruppe (4, 5, 8) sank wegen diffuser Fettgewebsblutungen an der Schweineniere der Blutdruck der perfundierenden Hunde trotz entsprechender Therapie erheblich ab. Unter Berücksichtigung dieser Umstände ergibt sich für eine Auswahl an Hämodilutionsversuchen eine in-vivo-Perfusionsdauer von 698,0 ± 193,8 min (n = 5), bis die Nieren nach unserer Definition abgestoßen waren. Bei in-vivo-Perfusion einer Niere durch einen mit Cyclophosphamid zusätzlich vorbehandelten, hämodiluierten Hund kam der renale Blutfluß nach 220 min zum Erliegen. Allerdings mußte dieser Versuch vorzeitig abgebrochen werden, da der Empfänger während des Experiment an einem Lungenödem ad finem kam.

In Tabelle 12 ist der zeitliche Verlauf der renalen Durchblutung während extrakorporaler in-vivo-Perfusion von 5 Nieren durch hämodiluierte Hunde dargestellt. Außerdem ist das Verhalten des RBF während extrakorporaler in-vivo-Perfusion einer Niere durch einen mit Cyclophosphamid zusätzlich vorbehandelten, hämodiluierten Hund eingetragen. Der RBF nahm in den Hämodilutionsversuchen 1, 2 und 3 bis zu 90 % innerhalb weniger Minuten nach Beginn der in-vivo-Perfusion zu. In den Hämodilutionsversuchen 4 und 6 und im Hämodilutions-Cyclophosphamid-Versuch konnte dieses Phänomen nicht beobachtet werden. Allerdings liegen aus der ersten Versuchsphase bei diesen Experimenten zu wenig RBF-Messungen vor. Nach Erreichen eines Maximums begann eine allmähliche Verschlechterung des RBF; 1 bis 5 h nach Beginn der in-vivo-Perfusion zeichnete sich der Anfang des völligen Zusammenbruchs der renalen Durchblutung ab. Die Messung des RBF im Hämodilutions-Cyclophosphamidversuch ergab niederere Werte als in den Hämodilutionsversuchen.

5 Nieren, die von hämodiluierten Hunden perfundiert wurden, wurden vor Versuchsbeginn und nach vollständiger Abstoßung gewogen. Es wurden Gewichte von 201,0 ± 12,5 g bzw. 380,0 ± 32,4 g gefunden. Die Niere, die von einem mit Cyclophosphamid zusätzlich vorbehandelten, hämodiluierten Hund perfundiert wurde, wog bei Versuchsbeginn 180,0 g, bei Versuchsende 280 g.

Tabelle 12: Verhalten des RBF bei extrakorporaler in-vivo-Perfusion von Schweinenieren durch hämodiluierte Hunde und einen hämodiluierten und zusätzlich mit Cyclophosphamid vorbehandelten Hund. Messung im venösen Teil des Perfusionssystems. Werte in ml/min/100 g Niere.

	HÄMODILUTION					Hämodilution-Cyclophosphamid
Versuch Nr.	1	2	3	4	6	9
Perfusionszeit	RBF (ml/min/100 g Niere)					
2'	66,7	65,1	40,5	141,7	43,6	33,3
5'			64,2			
10'	126,7		52,1			
20'		82,3	23,2			
30'	93,3	82,3			43,6	33,3
45'		57,1	16,6		43,6	
1 h	86,7	48,6	10,5		40,9	16,7
2 h	50,0	51,4	13,7	115,0	43,6	16,7
3 h	31,1	34,3	13,7	117,5	43,6	11,1
4 h	33,3	8,0	13,7	115,0	27,3	
6 h	13,3		13,7	90,0	20,5	
8 h			13,7	82,9	20,5	
10 h			15,3		11,4	
12 h			10,5		13,6	
14 h			1,1		2,7	
16 h	5,6					
18 h	2,8					
20 h	1,7					

2. Verhalten einiger Nierenfunktionskriterien

a) Renale Sauerstoffaufnahme

In 4 Hämodilutionsversuchen und im Hämodilutions-Cyclophosphamid-Versuch wurde die renale Sauerstoffaufnahme bestimmt. Die renale Sauerstoffaufnahme unterschied sich bei diesen Versuchsgruppen nicht wesentlich, wie aus Tabelle 13 ersichtlich ist. Das Maximum der Sauerstoffaufnahme von Nieren, die von hämodiluierten Hunden perfundiert wurden, lag in 2 Versuchen (2, 6) 3 h nach Perfusionsbeginn, in 2 Ex-

Tabelle 13: Verhalten der renalen Sauerstoffaufnahme bei extrakorporaler in-vivo-Perfusion von Schweinenieren durch hämodiluierte Hunde und einen hämodiluierten und zusätzlich mit Cyclophosphamid vorbehandelten Hund. Werte in ml/min/100 g Niere.

	HÄMODILUTION				Hämodilution-Cyclophosphamid
Versuch-Nr.	1	2	3	6	9
Perfusionszeit	renale Sauerstoffaufnahme (ml/min/100 g Niere)				
2'	0,64	0,74	1,00	0,53	0,52
5'			1,00		
10'	1,71				
20'					
30'	1,48				
45'					0,80
1 h	1,18	1,10	0,11	0,83	0,67
2 h	1,07		0,13	0,81	0,89
3 h	0,70	2,28	0,22	1,50	0,68
4 h	0,53	1,28	0,18	1,36	
5 h	0,24			0,99	
6 h			0,15	0,89	
7 h			0,15	0,81	
8 h			0,15	1,17	
9 h			0,17	0,45	
10 h			0,08	0,48	
11 h			0,16	0,29	
12 h			0,15	0,22	
13 h			0,08	0,04	
14 h				0,05	

perimenten (1, 3) unmittelbar nach Wiederherstellung der renalen Durchblutung. Im Hämodilutions-Cyclophosphamid-Versuch trat ein maximaler renaler Sauerstoffverbrauch 2 h nach Beginn der in-vivo-Perfusion auf.

b) Urinproduktion

aa) Gesamtvolumina

In allen Versuchen wurde die Gesamtproduktion an Urin bestimmt. Nieren, die von

hämodiluierten Hunden perfundiert wurden, schieden in 662,5 ± 126,8 min insgesamt 540,6 ± 232,1 ml (n = 8) Urin aus. Eine ausgewählte Gruppe dieser Nieren (siehe S. 32) produzierte in 698,0 ± 193,8 min 706,4 ± 360,4 ml (n = 5) Urin. Im Hämodilutions-Cyclophosphamid-Versuch schied die Niere in 220 min 53,6 ml Harn aus.

bb) Urinfluß

Die Urinproduktion pro Zeit- und Gewichtseinheit von 5 Nieren, die von hämodiluierten Hunden perfundiert wurden, und der Urinfluß im Hämodilutions-Cyclophosphamid-Versuch sind aus Tabelle 14 ersichtlich. 4 Nieren (1, 2, 3, 4), die von hämodiluierten Hunden perfundiert wurden, produzierten 75 - 120 min nach Beginn der Xenoperfusion die größten Urinmengen. Bei einer Niere (6) maßen wir den stärksten Urinfluß nach 320 min in-vivo-Perfusion. Ein Vergleich mit den RBF-Messungen an diesen Nieren zeigt, daß die Maxima des Urinflusses etwa 2 h nach den RBF-Spitzenwerten auftraten, die einige Minuten nach Beginn der in-vivo-Perfusion erreicht waren. In den Versuchen 1, 3 und 6 der Hämodilutionsgruppe, die länger überschaubar sind, begann nach unterschiedlichen Zeiten eine Phase relativ konstanter Urinproduktion. Mit fortschreitender Abstoßung wurden diese Nieren oligurisch und schließlich anurisch.

Die von einem zusätzlich mit Cyclophosphamid vorbehandelten, hämodiluierten Hund perfundierte Niere zeigte keine polyurische Phase, wie sie bei mehreren Nieren in Hämodilutionsversuchen zu beobachten war.

cc) Verhältnis Urinosmolarität/Serumosmolarität

Sowohl Nieren, die von hämodiluierten Hunden xenogen durchblutet wurden, als auch die Niere, die von einem Hund mit kombinierter Vorbehandlung (Hämodilution, Cyclophosphamid) perfundiert wurde, zeigten nur schlechte Konzentrationsfähigkeit. In der Hämodilutions-Gruppe wurden verschiedene Verläufe des Quotienten Urinosmolarität/Serumosmolarität beobachtet. In 3 Versuchen (5, 6, 8) wurde eine Restkonzentrationsfähigkeit der Nieren gefunden; in 2 Versuchen (5, 8) wurden leichte Steigerungen des Konzentrationsvermögens der Nieren während der Xenoperfusion festgestellt, wobei in einem Versuch (8) die Konzentrationsfähigkeit der Niere zuvor bereits abgenommen hatte.

Tabelle 14: Verhalten des Urinflusses von Schweinenieren während extrakorporaler in-vivo-Perfusion durch hämodiluierte Hunde und einen hämodiluierten und mit Cyclophosphamid vorbehandelten Hund. Werte in ml/min/100 g Niere.

	HÄMODILUTION					Hämodilution-Cyclophosphamid
Versuch Nr.	1	2	3	4	6	9
Perfusionszeit	Urinfluß (ml/min/100 g Niere)					
30'	0,06					
45'	1,00	0,06		0,05		0,10
60'	3,15	0,57		0,20	0,02	0,25
75'	5,15	1,52	0,02	0,18	0,11	0,24
105'	4,09	2,00	0,50	0,20	0,16	0,08
120'	5,04	2,86	2,07	0,13	0,15	0,11
140'	4,17	2,57	1,42	0,15	0,17	0,06
160'	2,72	2,29	1,50	0,05	0,20	0,18
180'	2,31	2,14	1,18	0,09	0,26	0,22
200'	2,44	1,43	1,34	0,09	0,34	
220'	1,89	0,77	0,55	0,06	0,52	0,11
240'	1,72	0,40	0,11	0,05	0,49	
260'	2,06	0,17	0,28	0,05	0,38	
280'	1,44	0,49	0,26	0,05	0,50	
300'	1,33		0,12	0,04	0,44	
320'	1,31		0,03	0,04	0,61	
340'	1,19		0,19	0,04	0,53	
360'	1,03		0,23	0,04	0,39	
420'	0,81		0,13	0,02	0,24	
480'	0,61		0,11	0,02	0,15	
540'	0,56		0,07		0,14	
600'	0,31		0,08		0,10	
660'	0,50		0,03		0,14	
720'	0,67		0,03		0,11	
780'	0,39		0,03		0,05	
840'	0,39		0,01			
900'	0,31					
960'	0,31					
1020'	0,22					
1080'	0,19					
1140'	0,17					
1200'	0,14					

Tabelle 15: Verhalten des Quotienten Urinosmolarität/Serumosmolarität bei extrakorporaler in-vivo-Perfusion von Schweinenieren durch hämodiluierte Hunde und einen kombiniert vorbehandelten Hund (Hämodilution/Cyclophosphamid).

	HÄMODILUTION								Hämodilution Cyclophosphamid
Versuch Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Perfusionszeit	Urinosmolarität/Serumosmolarität								
10'								1,63	
20'								1,25	
30'	1,03				0,97			1,08	
45'	1,01	1,03		0,95	1,11		0,83	0,95	1,00
1 h	1,00	0,99		0,90	1,00	1,37		0,99	1,04
2 h	1,00	0,99	0,87	0,69	1,13	1,03	0,91	0,93	1,04
3 h									1,06
5 h	0,99		0,98	0,84	1,22	0,88		1,06	
8 h	1,02		0,97	0,73		0,95		1,00	
11 h	1,03		0,97			0,71		1,07	
14 h	1,05							1,36	
17 h	1,02								
20 h	1,03								

Die Bestimmung des Quotienten Urinosmolarität/Serumosmolarität ergab im Hämodilutions-Cyclophosphamidversuch keinen Hinweis auf ein nennenswertes Konzentrationsvermögen des Nierenparenchyms.
Die U/S-Quotienten der Nieren, die von hämodiluierten Hunden bzw. einem hämodiluierten und zusätzlich mit Cyclophosphamid vorbehandelten Hund perfundiert wurden, sind in Tabelle 15 zusammengestellt.

c) Ausscheidung von Natrium und Kalium im Urin

In Tabelle 16 sind die Verläufe der Natriumkonzentrationen in Serum und Urin bei in-vivo-Perfusion von Schweinenieren durch hämodiluierte Hunde und durch einen kombiniert vorbehandelten Hund (Hämodilution, Cyclophosphamid) eingetragen. Die entsprechenden Kaliumwerte sind in Tabelle 17 zusammengestellt.

Tabelle 16: Verhalten der Natriumkonzentrationen in Serum (S) und Urin (U) bei extrakorporaler in-vivo-Perfusion von Schweinenieren durch hämodiluierte Hunde und einen kombiniert vorbehandelten Hund (Hämodilution/Cyclophosphamid). Werte in mVal/l. HKT-Tief = nach Hämodil.

	HÄMODILUTION				Hämodilution-Cyclophosphamid	
Versuch Nr.	1 - 8				9	
Bestimmung in	S		U		S	U
Perfusionszeit	Natriumkonzentrationen (mVal/l)					
HKT-Tief		163,1 ± 7,6			143,0	
10'		154,7 ± 7,4	(n=1)	136,9		
20'		153,8 ± 6,4	(n=1)	141,8		
30'		159,4 ± 10,5		131,1 ± 3,9		
45'		159,1 ± 9,7		134,7 ± 5,0	132,3	133,5
1 h		163,3 ± 11,1		131,2 ± 3,2	126,0	141,0
2 h		164,8 ± 10,0		132,9 ± 7,0	132,5	112,5
5 h		164,2 ± 8,5		136,9 ± 6,5		
8 h		165,1 ± 16,8		136,9 ± 5,8		
11 h		173,5 ± 16,5		126,2 ± 4,9		
14 h	(n=2)	175,8 ± 44,8		125,6 ± 3,9		
17 h	(n=1)	180,0	(n=1)	138,0		
20 h	(n=1)	216,0	(n=1)	141,0		

In der Hämodilutionsgruppe lagen alle errechneten Konzentrationen des Natriums im Urin unter den entsprechenden Serumkonzentrationen. Während die Serumnatriumkonzentrationen im Verlauf der Versuche steigende Tendenzen zeigten, verhielt sich die im Urin pro Volumeneinheit ausgeschiedene Natriummenge relativ konstant.

Im Hämodilutions-Cyclophosphamid-Versuch enthielt der anfangs produzierte Urin mehr Natrium pro Volumeneinheit als das Serum des Empfängers.

Bei Beginn der Harnausscheidung wurden im Urin von Nieren, die durch hämodiluierte Hunde bzw. einen kombiniert vorbehandelten Hund (Hämodilution, Cyclophosphamid) perfundiert wurden, hohe Kaliumkonzentrationen gemessen. Mit zu-

Tabelle 17: Verhalten der Kaliumkonzentrationen in Serum (S) und Urin(U) bei extrakorporaler in-vivo-Perfusion von Schweinenieren durch hämodiluierte Hunde und einen kombiniert vorbehandelten Hund (Hämodilution/Cyclophosphamid). Werte in mVal/l. HKT-Tief = nach Hämodilution.

	HÄMODILUTION				Hämodilution-Cyclophosphamid	
Versuch Nr.	1 - 8				9	
Bestimmung in	S		U		S	U
Perfusionszeit	Kaliumkonzentrationen (mVal/l)					
HKT-Tief	3,8 ± 0,2				3,8	
10'	5,3 ± 0,6	(n=1)	19,0			
20'	5,3 ± 0,5	(n=1)	9,1			
30'	5,4 ± 0,3		6,9 ± 1,6			
45'	5,4 ± 0,7		7,0 ± 2,0		9,5	11,8
1 h	5,2 ± 0,6		6,7 ± 1,0		9,5	11,8
2 h	4,7 ± 0,4		5,4 ± 0,6		8,9	9,8
5 h	4,3 ± 0,4		4,7 ± 0,4			
8 h	4,5 ± 0,8		4,9 ± 0,4			
11 h	3,9 ± 0,2		4,2 ± 0,1			
14 h	(n=2)	4,4 ± 0,7		4,3 ± 0,3		
17 h	(n=1)	3,4	(n=1)	3,9		
20 h	(n=1)	3,4	(n=1)	4,3		

nehmender Dauer der in-vivo-Perfusion sanken diese Kaliumkonzentrationen. Im Serum konnte bei diesen Versuchen nach Beginn der extrakorporalen Perfusion eine erhebliche Zunahme der Kaliumkonzentration im venösen Schenkel des Perfusionssystems festgestellt werden. Mit fortschreitender Versuchsdauer nahm die Konzentration des Kaliums im Serum ab.

d) Eiweißausscheidung im Urin

Alle Urine von Nieren, die durch hämodiluierte Hunde perfundiert wurden, waren eiweißhaltig. Die Proteinkonzentrationen im Urin schwankten zwischen 0,5 g% und 2,5 g%. Es konnten weder deutliche Abnahme- noch Zunahmetendenzen des Protein-

gehalts im Urin festgestellt werden.
Der Urin einer Niere, die von einem kombiniert vorbehandelten Hund (Hämodilution, Cyclophosphamid) perfundiert wurde, enthielt anfangs 1 g%, nach 3 h in-vivo-Perfusion 2 g% Eiweiß. Der Serumeiweißspiegel blieb während der extrakorporalen Perfusion konstant.

e) Erythrozytenausscheidung im Urin

Die Auszählung der Erythrozyten im Urin von Nieren, die durch hämodiluierte Hunde perfundiert wurden, ergab sehr unterschiedliche Ergebnisse. In einigen Versuchen konnten mit zunehmender in-vivo-Perfusionsdauer Anstiege der Erythrozytenausscheidung im Urin beobachtet werden, z. B. von 0 auf 15000 Erys/mm^3 nach 220 min Versuchsdauer. Manchmal traten stark wechselnde Erythrozytenzahlen im Urin auf; so z. B. in einem Versuch 600000 Erythrozyten/mm^3 280 min nach Beginn der in-vivo-Perfusion, 4 h später wurden 5400 Erythrozyten/mm^3 Urin gezählt. In anderen Versuchen dieser Gruppe bewegten sich die Erythrozytenzahlen im Urin, abgesehen von meist bei Einsetzen der Urinproduktion auftretenden Maxima, ziemlich konstant in der Größenordnung einiger Hundert bis Tausend im mm^3 Urin.
Bei Bestimmung der Erythrozytenausscheidung im Urin einer Niere, die von einem kombiniert vorbehandelten Hund (Hämodilution, Cyclophosphamid) perfundiert wurde, wurden bei Einsetzen der Harnproduktion 400 Erythrozyten/mm^3 gezählt. 1 h später waren es 32000 Erythrozyten/mm^3 Urin. Nach 220 min in-vivo-Perfusion enthielt der Urin 160000 Erythrozyten/mm^3.
Es konnte keine Korrelation irgendeiner gemessenen Größe mit der Erythrozytenausscheidung im Urin von Nieren, die von vorbehandelten Hunden perfundiert wurden, nachgewiesen werden.

f) Renale Freisetzung von Enzymen

aa) Verhalten der LDH in Serum und Urin

Die renale Freisetzung von Lactatdehydrogenase wurde an 4 Nieren studiert, die

Tabelle 18a: Verhalten der LDH-Konzentrationen im postrenalen Serum (S) und Urin (U) bei extrakorporaler in-vivo-Perfusion von Schweinenieren durch hämodiluierte Hunde. Werte in mU/ml. HKT-Tief = nach Hämodilution.

HÄMODILUTION

Versuch Nr.	1		3		2	6
Bestimmung in	S	U	S	U	U	U
Perfusionszeit	LDH-Konzentrationen (mU/ml)					
HKT-Tief	25		26			
2'	41		26			
5'	43		19			
10'	32					
20'	33		22			
30'	63	514	22			
45'	121	75				
1 h	111	132	48		648	309
2 h	223	208	150	398	379	355
3 h	255	263	375	605	455	419
4 h	312	242	366	430	992	319
5 h	318	237	494	621		500
8 h	302	581	414	573		858
11 h	392	585	303	669		1206
14 h	280	740		876		
17 h	239	573				
20 h	291	1910				

Tabelle 18b: LDH-Absolutwerte im Urin (U) bei extrakorporaler in-vivo-Perfusion von Schweinenieren durch hämodiluierte Hunde. Werte in mU/min/100 g Niere.

HÄMODILUTION

Versuch Nr.	1	2	3	6
Bestimmung in	U	U	U	U
Perfusionszeit	LDH-Absolutwerte (mU/min/100 g Niere)			
30'	31			
45'	75			
1 h	416	369		6
2 h	1048	1070	824	53
3 h	608	974	714	109
4 h	416	397	47	156
5 h	315		75	220
8 h	354		63	129
11 h	293		20	176
14 h	289		9	
17 h	126			
20 h	267			

von hämodiluierten Hunden in vivo perfundiert wurden. In Tabelle 18 a ist der Verlauf der LDH-Konzentrationen in Serum und Urin während dieser Versuche zusammengestellt. Die postrenale Serum-LDH-Konzentration nahm nach 30 - 60 min in-vivo-Perfusion zu und erreichte nach etwa 3 h xenogener Perfusion relativ konstante Werte. Die Urin-LDH-Konzentration stieg im Verlauf der in-vivo-Perfusion an, eine Umrechnung dieser Ergebnisse in Absolutmengen ausgeschiedener Urin-LDH zeigte jedoch, daß die renale Freisetzung von LDH im Urin in 3 Versuchen nach 2 h in-vivo-Perfusion, in einem Versuch (6) nach 5 h xenogener Perfusion am stärksten war. Diese Maxima wurden in den Phasen des höchsten Urinflusses erreicht. Mit fortschreitender Abstoßung der Nieren verringerte sich die im Urin ausgeschiedene Absolutmenge an LDH. Diese Befunde sind in Tabelle 18 b zusammengestellt.

bb) Verhalten der GOT in Serum und Urin

Die renale Freisetzung von Glutamat-Oxalacetat-Transaminase wurde ebenfalls an 4 Nieren studiert, die von hämodiluierten Hunden in vivo perfundiert wurden. Die GOT-Konzentration im postrenalen Serum des Empfängers begann nach 2 h xenogener Perfusion der Nieren deutlich anzusteigen. Nach etwa 4 h in-vivo-Perfusion wurden relativ konstante, aber deutlich erhöhte Konzentrationswerte erreicht. Die Urin-GOT-Konzentration nahm in 3 Versuchen (1, 2, 6) zunächst ab, stieg dann wieder an und erreichte nach 3 bis 5 h in-vivo-Perfusion eine Phase relativer Konstanz. Diese Ergebnisse sind in Tabelle 19a eingetragen. Eine Berechnung der

Tabelle 19a: Verhalten der GOT-Konzentrationen im postrenalen Serum (S) und Urin (U) bei extrakorporaler in-vivo-Perfusion von Schweinenieren durch hämodiluierte Hunde. Werte in mU/ml. HKT-Tief = nach Hämodilution.

	HÄMODILUTION					
Versuch Nr.	1		3		2	6
Bestimmung in	S	U	S	U	U	U
Perfusionszeit	GOT-Konzentrationen (mU/ml)					
HKT-Tief	12		26			
2'	10		25			
5'	7		6			
10'	9					
20'	8		10			
30'	13	333	17			
45'	27	87				
1 h	25	73	11		78	246
2 h	64	142	101	67	70	244
3 h	142	254	228	168	118	183
4 h	210	273	317	201	221	205
5 h	241	273	567	243		376
8 h	249	310	396	362		450
11 h	232	269	470	332		325
14 h	224	329		343		
17 h	261	164				
20 h	272	179				

Tabelle 19b: GOT-Absolutwerte im Urin (U) bei extrakorporaler in-vivo-Perfusion von Schweinenieren durch hämodiluierte Hunde. Werte in mU/min/100 g Niere.

	HÄMODILUTION			
Versuch Nr.	1	2	3	6
Bestimmung in	U	U	U	U
Perfusionszeit	GOT-Absolutwerte (mU/min/100 g Niere)			
30'	20			
45'	87			
1 h	230	45		5
2 h	715	200	138	37
3 h	586	253	198	48
4 h	470	88	22	100
5 h	359		29	165
8 h	189		39	68
11 h	135		10	46
14 h	128		3	
17 h	36			
20 h	25			

ausgeschiedenen Urin-GOT pro Zeit- und Gewichtseinheit ergab, daß die Enzymfreisetzung 2 bis 5 h nach Versuchsbeginn am stärksten war. Dieser Befund deckt sich mit den im Rahmen von LDH-Bestimmungen gesammelten Erfahrungen, sowohl hinsichtlich des Verlaufs der Enzymausscheidung im Urin, als auch hinsichtlich der Korrelation zum Urinfluß. Diese Werte sind in Tabelle 19 b zusammengestellt.

cc) Verhalten der GPT in Serum und Urin

Die Frage einer renalen Freisetzung von Glutamat-Pyruvat-Transaminase wurde an 4 Nieren untersucht, die von hämodiluierten Hunden in vivo-perfundiert wurden. In den postrenalen Seren konnten während dieser Versuche keine GPT-Konzentrationsanstiege beobachtet werden. Auch die Konzentration der GPT im Urin dieser Nieren war in 2 Versuchen (1, 3) nicht sicher, in 2 weiteren Versuchen (2, 6) nur unerheblich erhöht; die Umrechnung in Absolutwerte ergab, etwa im

Vergleich zur GOT-Ausscheidung im Urin, Minimalwerte. Der Verlauf der GOT-Konzentrationen im postrenalen Serum und Urin ist aus Tabelle 20a ersichtlich, die Absolutwerte der GPT im Urin können Tabelle 20b entnommen werden.

Tabelle 20a: Verhalten der GPT-Konzentrationen im postrenalen Serum (S) und Urin (U) bei extrakorporaler in-vivo-Perfusion von Schweinenieren durch hämodiluierte Hunde. Werte in mU/ml. HKT-Tief = nach Hämodilution.

	HÄMODILUTION					
Versuch Nr.	1		3		2	6
Bestimmung in	S	U	S	U	U	U
Perfusionszeit	GPT-Konzentrationen (mU/ml)					
HKT-Tief	7		0			
2'	7		0			
5'	8		0			
10'	5					
20'	6		0			
30'	4	21	0			
45'	7	10				
1 h	9	9	0		14	80
2 h	9	12	0	15	10	21
3 h	7	9	0	8	16	21
4 h	11	9	0	6	31	28
5 h	7	9	0	14		32
8 h	4	11	0	11		46
11 h	8	22	0	15		45
14 h	9	11		7		
17 h	8	11				
20 h	12	26				

Tabelle 20b: GPT-Absolutwerte im Urin (U) bei extrakorporaler in-vivo-Perfusion von Schweinenieren durch hämodiluierte Hunde. Werte in mU/min/100 g Niere.

HÄMODILUTION

Versuch Nr.	1	2	3	6
Bestimmung in	U	U	U	U
Perfusionszeit	GPT-Absolutwerte (mU/min/100 g Niere)			
30'	1			
45'	10			
1 h	28	8		2
2 h	61	29	31	4
3 h	21	34	9	5
4 h	16	12	1	14
5 h	12		2	14
8 h	7		1	7
11 h	11		0,5	7
14 h	4		0	
17 h	2			
20 h	4			

3. Bestimmung humoraler Antikörper gegen Schweinenierengewebe, -Erythrozyten und -Leukozyten in Seren vorbehandelter Hunde

a) Bestimmung komplementbindender Anti-Schweinenieren-Antikörper

In allen Seren von Hunden, die hämodiluiert wurden, konnte eine erhebliche Reduktion komplementbindender Antikörper gegen Schweinenierengewebe nach der Hämodilution gemessen werden. Während der in-vivo-Perfusion von Schweinenieren durch diese Hunde zeigten sich keine deutlichen Änderungen der durch Hämodilution erzielten Titer.

Im Hämodilutions-Cyclophosphamid-Versuch wurden gleiche Ergebnisse gefunden. Die Titerverläufe in den einzelnen Versuchen enthält Tabelle 21.

Tabelle 21: Titerverlauf komplementbindender Anti-Schweinenieren-Antikörper im Hundeserum vor und während extrakorporaler in-vivo-Perfusion von Schweinenieren durch hämodiluierte Hunde und einen kombiniert vorbehandelten Hund (Hämodilution, Cyclophosphamid). Werte reziprok. Ausgangswert = vor Hämodilution. HKT-Tief = nach Hämodilution.

	HÄMODILUTION								Hämodilution-Cyclophosphamid
Versuch Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Perfusionszeit	Komplementbindende Antikörper gegen Nierengewebe (Titer 1:)								
Ausgangswert	64	16	32	8	32	32	64	32	8
HKT-Tief	8	4	2	0	4	2	2	4	0
2'	8	0	4	0	4	4	4	4	
5'	8	2	2	0	4	4	4	4	0
10'	8	2		0	8	2	4	4	0
20'	8	2	2	0		4	0	4	0
30'	8	2	2	0	4	4	4	4	0
45'	8	2		0		2	4		0
1 h	8	2	2	0		1	2	4	0
2 h	8	2	2	0	4	2	4	2	0
5 h	8	0	4	0	4	2		2	
8 h	8		4	0		0		2	
11 h	8		2			0		2	
14 h	8							2	
17 h	4								
20 h	8								

b) Bestimmung von Anti-Schwein-Hämagglutinen

Durch Hämodilution konnten präformierte hämagglutinierende Antikörper im Hundeserum teilweise eliminiert werden. Bemerkenswert erscheint, daß in 3 Versuchen (5, 6, 8) durch Hämodilution lediglich geringgradige, keineswegs signifikante Abnahmen hämagglutinierender Xeno-Antikörper erreicht wurden, jedoch nach 2 min xenogener in-vivo-Perfusion deutliche Titersenkungen meßbar waren. Im weiteren Versuchsverlauf änderten sich diese Titer nur wenig.

Tabelle 22: Titerverlauf agglutinierender Antikörper gegen Schweineerythrozyten im Hundeserum vor und während extrakorporaler in-vivo-Perfusion von Schweinenieren durch hämodiluierte Hunde und einen kombiniert vorbehandelten Hund (Hämodilution, Cyclophosphamid). Werte reziprok. Ausgangswert = vor Hämodil.; HKT-Tief = nach Hämodil.

	HÄMODILUTION								Hämodilution-Cyclophosphamid
Versuch Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Perfusionszeit	Hämagglutinine (Titer 1:)								
Ausgangswert	16	8	8	32	32	32	8	16	128
HKT-Tief	4	2	2	2	16	16	2	8	8
2'	2	1	0	2	2	4	0	1	
5'	2	1	1	2	1	4	1	2	8
10'	2	1		1	1	4	2	1	2
20'	2	1	1	0	2	2	2	2	2
30'	2	1	1	1	0	2	1	2	2
45'	2	1		0	1	4	1		2
1 h	1	1	0	1	1	2	1	1	2
2 h	2	0	0	1	1	2	1	2	0
5 h	1	0	0	0	0	0		2	
8 h	2		0	0		2		1	
11 h	0		0			0		1	
14 h	0		1					2	
17 h	0								
20 h	2								

Bei kombinierter Vorbehandlung eines Hundes mit Hämodilution und Cyclophosphamid konnte keine wesentliche Änderung des Titerverlaufes vor und während der extrakorporalen Xenoperfusion im Vergleich zu den Hämodilutionsversuchen beobachtet werden.

Auffallend war, daß in einem Versuch mit Hämodilution des Empfängers (2) und im Hämodilutions-Cyclophosphamid-Versuch die Titerverläufe gegen Ende der in-vivo-Perfusion abnehmende Tendenzen aufwiesen.

Diese Ergebnisse sind in Tabelle 22 zusammengefaßt.

c) Bestimmung von Anti-Schwein-Leukoagglutininen

Die Titer von Anti-Schwein-Leukoagglutininen in Hundeseren vor und während der Xenoperfusion von Schweinenieren durch hämodiluierte Hunde und einen mit Cyclophosphamid zusätzlich vorbehandelten, hämodiluierten Hund sind in Tabelle 23 eingetragen.
Die Befunde beider Versuchsgruppen waren uneinheitlich. Es wurden sowohl uneinheitliche Titerverläufe als auch stark differierende Titer in noch unbehandelten Hunden gemessen.

Tabelle 23: Titerverlauf agglutinierender Antikörper gegen Schweineleukozyten im Hundeserum vor und während extrakorporaler in-vivo-Perfusion von Schweinenieren durch hämodiluierte Hunde und einen kombiniert vorbehandelten Hund (Hämodilution, Cyclophosphamid). Werte reziprok. Ausgangswert = vor Hämodil.; HKT-Tief = nach Hämodil.

	HÄMODILUTION								Hämodilution-Cyclophosphamid
Versuch Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Perfusionszeit	Leukoagglutinine (Titer 1:)								
Ausgangswert	16	8	2	8	4	32	8	2	32
HKT-Tief	4	16	4	0	2	16	2	1	4
2'	4	8	8	0	1	16	2	2	
5'	4	16	4	0	2	8	2	1	8
10'	64	16		1	2	16	0	2	8
20'	32	32	8	0	1	4	1	4	8
30'	4	8	4	0	2	16	0	2	16
45'	8	16		0	4	8	2		8
1 h	4	8	2	0	4	8	0	4	8
2 h	8	16	4	0	4	16	2	4	32
5 h	8	32	4	0	4	16		2	
8 h	32		8	0		16		2	
11 h	8		4			16		1	
14 h	32		8					1	
17 h	4								
20 h	4								

4. Pathologische Befunde an Schweinenieren während und nach in-vivo-Perfusion durch vorbehandelte Hunde

a) Makroskopische Veränderungen

Die bei extrakorporaler in-vivo-Perfusion durch vorbehandelte Hunde beobachteten Nierenphänomene ähnelten den bei in-vivo-Perfusion vorperfundierter Nieren durch unbehandelte Hunde gesammelten Ergebnissen sehr. Die fleckige, dunkelrosa bis livide Verfärbung der Nieren begann jedoch erst nach 10 - 20 min. extrakorporaler Xenoperfusion. 20 - 40 min später waren die Nieren diffus cyanotisch verändert. Nierenrinde und -Mark waren bei Versuchsende extrem dunkelrot-hämorrhagisch imbibiert. Die Gefäße waren stets frei. Nach vollständiger Abstoßung im Sinne der oben gegebenen Definition fielen in allen Versuchen der gesteigerte Turgor der Nieren, die tiefblaue Verfärbung der Oberfläche und eine deutliche Gewichtszunahme auf.
Eine Niere, die von einem kombiniert vorbehandelten Hund (Hämodilution, Cyclophosphamid) in vivo perfundiert wurde, war etwa 45 min lang nach Anschluß an den Empfängerhund physiologischen Verhältnissen entsprechend gefärbt. Erst dann entwickelte sich allmählich eine herdförmige, später generalisierte cyanotische Verfärbung der Nierenoberfläche. Bei Versuchsende war der Turgor erhöht, das Gewicht hatte zugenommen. Die Schnittfläche war durch diffuse hämorrhagische Veränderungen von Mark und Rinde gekennzeichnet, deren Intensität jedoch nicht den Grad erreichte, den wir in den Hämodilutionsversuchen beobachten konnten. Die Gefäße waren frei.

b) Mikroskopische Veränderungen

In Tabelle 24 sind die wesentlichen path.-histolog. Veränderungen der Nieren eingetragen, die von vorbehandelten Hunden in vivo perfundiert wurden.
Wenn Schweinenieren von hämodiluierten Hunden perfundiert wurden, wurden fast ausnahmslos Infiltrate segmentkerniger Granulocyten gefunden, die sowohl in den Glomerula als auch in den intertubulären Kapillaren lokalisiert waren; vereinzelt

Tabelle 24: Zusammenstellung path.-histologischer Veränderungen in Schweinenieren, die von hämodiluierten Hunden bzw. einem kombiniert vorbehandelten Hund (Hämodilution, Cyclophosphamid) in vivo perfundiert worden waren.

+ = gut erhalten, - = fehlt bzw. zerstört, (-) = Zerstörung nicht sicher nachweisbar.

	GLOMERULUM					TUBULUS		INTERSTITIUM	
GRUPPE	Kapillar-lumen	Endothel	Basal-membran	Mesangium	Deckepi-thel	Bowman-Kapselr.	Lumen Epithel	intertubuläre Kapillaren	Stroma
1. Hämodilutionsversuche	Konfluktion mehrerer Lumina Stase Granulozyten	-	+ (-)	-	+	+ geleg. Ablage-rungen	schwere hypoxische Schäden Ablagerungen	Stase Granulozyten	verbreitet Blutaustritte (Rundzellinfiltrate)
2. Hämodilutions-Cyclophospha-mid-Versuch	Konfluktion mehrerer Lumina Stase	-	+ (-)	-	+ -	+ geleg. Ablage-rungen	schwere hypoxische Schäden Ablagerungen	Stase	

wurden derartige Infiltrate in den Wänden kleinerer und mittelgroßer Arterien gesehen. Im allgemeinen fielen schwere hämorrhagische Nekrosen der Glomerula auf. Endothel und Mesangium waren hierbei hauptsächlich betroffen. Als Folge hiervon konfluierten die stark hyperämischen Kapillarschlingen sackartig. Das Tubulussystem war immer schwer hypoxisch geschädigt. Diverse tubuläre Ablagerungen konnten beobachtet werden, so z. B. amorphes, fädignetziges, vakuoliges und fibrinoides Material. Bürstensäume waren fast nie erhalten. Bei Fibrinfärbung konnten in einer Niere (1) in einzelnen Glomerulumkapillaren, in der Wand granulocytär-infiltrierter, mittelgroßer Arterien und auf deren Endothel sowie in den Tubuli einer anderen Niere (3) fibrinpositive Niederschläge nachgewiesen werden. Thrombozytenablagerungen wurden nie entdeckt. Es ergaben sich in jedem Versuch morphologische Hinweise auf eine abgelaufene Abstoßungsreaktion. Ein Vergleich dieser Befunde mit dem histologischen Untersuchungsergebnis einer Niere (Gesamtanoxiezeit 105 min), die nach 85 min extrakorporaler Perfusion durch einen hämodiluierten Hund wegen eines technischen Fehlers entfernt werden mußte, ist interessant. Es fanden sich hierbei nämlich nur leichte hypoxische Schäden des Tubulussystems.

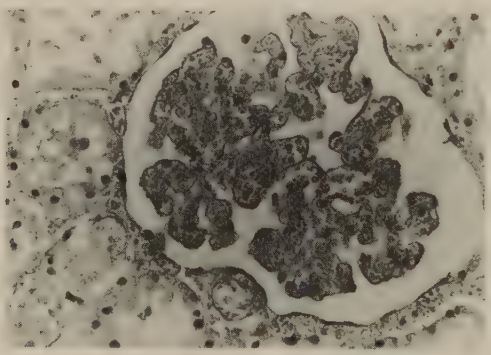

Abbildung 4: Zustand einer durch einen hämodiluierten Hund in vivo perfundierten Schweineniere (Perfusionsdauer 290 min). Vorperfusion mit modifizierter Basislösung. Warme und kalte Anoxiezeit insgesamt 105 min. PAS-Färbung (Dr. Pielsticker).

Eine Niere, die von einem kombiniert vorbehandelten Hund (Hämodilution, Cyclophosphamid) perfundiert wurde, bot ein den Veränderungen der Nieren, die von hämodiluierten Hunden perfundiert wurden, sehr ähnliches Bild. Auffallend war jedoch das Fehlen granulozytärer Infiltrate. Insgesamt zeigte auch diese Niere Zeichen einer abgelaufenen Abstoßungsreaktion.

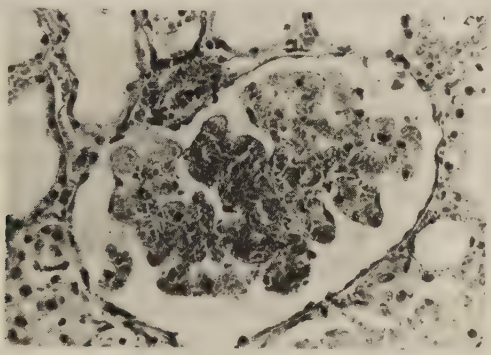

Abbildung 5: Zustand einer durch einen zusätzlich mit Cyclophosphamid vorbehandelten, hämodiluierten Hund perfundierten Schweineniere (Perfusionsdauer 220 min). Vorperfusion mit modifizierter Basislösung, Anoxiezeit (warm + kalt) 90 min. HE-Färbung (Dr. Pielsticker).

III. Nachweis eines vasoaktiven Prinzips im Urin von Schweinenieren bei in-vivo-Perfusion durch unbehandelte und vorbehandelte Hunde[+)]

Etwa 10 kg schweren Bastardhunden, die mit 25 mg/kg Pentobarbital[1)] narkotisiert waren, wurden über einen venösen Femoraliskatheter 1,0 - 1,5 ml Schweinenierenurin injiziert, der bei der extrakorporalen in-vivo-Perfusion von Schweinenieren durch unbehandelte und vorbehandelte Hunde produziert worden war. Der arterielle Druck der Hunde wurde via Carotis-comm.-Katheter mit einem Ludwig'schen Quecksilbermanometer bestimmt und auf einem Rußkymographen registriert.

[+)] Die Untersuchungen wurden am Institut für Klinische Chemie und Klinische Biochemie der Universität München durchgeführt. Herrn Prof. Dr. Dr. Werle und Herrn A. Schmal gilt mein besonderer Dank.

1) Nembutal [R], Deutsche Abbott GmbH, Ingelheim/Rhein

Untersucht wurden Urine aus 5 Hämodilutionsversuchen (1, 3, 5, 7, 8) und einem Kontrollversuch, in dem eine Schweineniere, die mit modifizierter Basislösung vorperfundiert worden war, von einem unbehandelten Hund perfundiert wurde.

In allen genannten Versuchen war Urin ausgeschieden worden, der nach i. v. Injektion einen blutdrucksteigernden Effekt zeigte. Gleiche vasoaktive Urinproben bewirkten nach i. v. Applikation an verschiedenen Hunden meist unterschiedlich hohe Blutdruckerhöhungen. Einzelne Hunde erwiesen sich nach i. v. Injektion von Urinen, die in anderen Hunden einen blutdrucksteigernden Effekt hervorgebracht hatten, refraktär. Die beobachteten Blutdruckerhöhungen betrugen maximal bis 100 mmHg; durchschnittlich stieg der arterielle Mitteldruck der Hunde nach i. v. Injektion von Schweinenierenurin um 20 - 40 mmHg an.

Durch diese Untersuchungen konnte ein blutdrucksteigerndes Prinzip im Urin xenogen perfundierter Schweinenieren qualitativ gesichert werden.

Durch Vergleich von Dosis-Wirkungskurven und durch die atypischen Kurvenverläufe konnten Adrenalin, Noradrenalin, Serotonin und Angiotensine als Ursache der beobachteten Phänomene mit großer Wahrscheinlichkeit ausgeschlossen werden.

Im einzelnen wurden folgende Befunde erhoben:

In 3 Hämodilutionsversuchen (1, 7, 8) wurden blutdrucksteigernde Effekte in Urin, der im letzten oder den letzten beiden Versuchsdritteln ausgeschieden worden war, gefunden.

In Versuch 1 konnte eine schwache blutdrucksteigernde Wirkung des kurz nach Versuchsbeginn produzierten Urins nachgewiesen werden. Der in der Folgezeit ausgeschiedene Urin war zunächst nicht blutdrucksteigernd, jedoch konnte im 980-min-Urin nach Gabe von 5 ml erneut ein Anstieg des arteriellen Mitteldrucks des Hundes festgestellt werden. Durch i. v. Applikation von Urin, der in den folgenden 60 min produziert worden war, ließen sich deutliche Blutdrucksteigerungen erzielen. Im gegen Versuchsende ausgeschiedenen Harn wurde keine vasoaktive Substanz gefunden.

In Versuch 7 zeigten alle nach 140 min Xenoperfusionsdauer gesammelten Urine bei Injektion in die V. femoralis eines Hundes eine blutdruckerhöhende Wirkung.

In Versuch 8 konnten fast ausnahmslos in allen Urinproben, die 240 bis 895 min (= vollständige Abstoßung) nach Beginn der in-vivo-Perfusion entnommen worden waren, nach i. v. Applikation deutliche Blutdruckanstiege registriert werden.

In Urinen, aus 2 weiteren Hämodilutionsversuchen (3, 5) stammend, konnte ebenfalls ein blutdrucksteigerndes Prinzip nachgewiesen werden. Ein zeitlicher Zusammenhang zwischen Auftreten des Phänomens und Versuchsablauf konnte jedoch nicht hergestellt werden, da Urinproben aus allen Versuchsphasen blutdrucksteigernd wirkten. Die Uringesamtproduktion einer Schweineniere, die von einem unbehandelten Hund perfundiert wurde (Versuch 10), wurde in zwei Hälften geteilt- entsprechend der Ausscheidung in der ersten und zweiten Versuchshälfte. Durch Injektion von 1 ml Urin in die V. femoralis eines Hundes konnte eine blutdrucksteigernde Wirkung des ersten und zweiten Urinpools bewiesen werden.
Der zeitliche Verlauf und die Höhe der Blutdrucksteigerung waren recht variabel. Als Beispiel einer öfters beobachteten Verlaufsform dienen die Kurven in Abbildung 6.

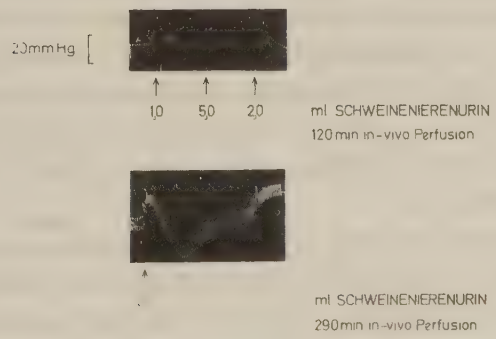

Abbildung 6: Blutdrucksteigernde Wirkung nach Injektion von Urin einer xenoperfundierten Schweineniere (hämodiluierte Hunde) in die V. femoralis eines Hundes (A. Schmal).

IV. Zusammenfassung der Ergebnisse

1. Vergleich der Abstoßung von Schweinenieren durch unbehandelte und vorbehandelte Hunde

a) Verhalten der Nierendurchblutung und des Nierengewichts

Die hyperakute Abstoßungsreaktion an Nieren im Schwein-Hund-System konnte durch Vorperfusion der Nieren verzögert werden, wie ein Vergleich mit einer nicht vorperfundierten Niere verdeutlicht: während diese Niere bereits nach 8 min abgestoßen war, dauerte die gleiche Reaktion bei einer mit Basislösung vorperfundierten Niere 17,5 min. Nach Verbesserung der Konservierungstechnik kam der RBF erst nach 107,1 min zum Erliegen. Durch Hämodilution der Empfänger gelang es, die hyperakute Abstoßungsreaktion im Schwein-Hund-System entscheidend zu beeinflussen. Der RBF sistierte in Nieren, die von hämodiluierten Hunden in vivo perfundiert wurden, nach 698 min. Durch kombinierte Vorbehandlung eines Empfängers mit Cyclophosphamid und Hämodilution wurde der RBF in einem Stichversuch zwar verzögert, eine endgültige Beurteilung dieses Ergebnisses ist aber nicht möglich, da der Versuch vorzeitig abgebrochen werden mußte.

Während in einigen Hämodilutionsversuchen die renale Durchblutung nach Beginn der Xenoperfusion anstieg und in allen Experimenten dieser Gruppe im weiteren Verlauf nur allmählich sank, wurden in den Kontrollversuchen schnelle Verschlechterungen des RBF gemessen. Durch kombinierte Vorbehandlung (Hämodilution, Cyclophosphamid) des Empfängers konnte keine Verbesserung der Ergebnisse der Hämodilutionsversuche erreicht werden. Alle Abstoßungsreaktionen waren mit Gewichtszunahmen der jeweiligen Nieren verbunden. Auffallend gering war der Gewichtsanstieg von Nieren, die mit Basislösung vorperfundiert und durch unbehandelte Hunde abgestoßen worden waren.

b) Verhalten einiger Nierenfunktionskriterien

aa) Renale Sauerstoffaufnahme

Von unbehandelten Hunden perfundierte Nieren nahmen kurz nach Wiederherstellung der renalen Durchblutung mehr Sauerstoff aus dem Hundeblut auf, als Nieren, die von vorbehandelten Hunden perfundiert wurden. Die Utilisation des Sauerstoffangebots durch Schweinenieren wurde in den Kontrollen schnell schlechter, bei Vorbehandlung der Empfänger vollzog sich dieser Prozeß langsamer.

bb) Urinproduktion

1. Gesamtvolumina

Durch unbehandelte Hunde abgestoßene Schweinenieren waren anurisch oder schieden nur unzureichende Mengen Urin aus. Durch Hämodilution von Hunden konnte die Urinproduktion xenoperfundierter Schweinenieren auf 706,4 ml gesteigert werden, da die Nieren durch die Empfängerhunde verzögert abgestoßen wurden. Eine Niere war in einem Versuch mit kombinierter Vorbehandlung (Hämodilution, Cyclophosphamid) des Empfängers oligurisch.

2. Urinfluß

Die Urinflußmaxima wurden in Kontrollversuchen und in Versuchen mit Vorbehandlung des Empfängers 60 - 120 min nach Beginn der extrakorporalen in-vivo-Perfusion erreicht, in einem Hämodilutionsversuch nach 5 h. Die RBF-Maxima lagen zeitlich immer vor den Urinflußmaxima.

3. Verhältnis Urinosmolarität/Serumosmolarität

Keine xenoperfundierte Schweineniere konzentrierte zufriedenstellend. Zumeist betrug der Quotient Urinosmolarität/Serumosmolarität etwa 1. Nur in zwei Hämodilutionsversuchen (6, 8) wurden etwas höhere Werte gemessen, maximal 1,63.

cc) Ausscheidung von Natrium und Kalium im Urin

Sowohl Schweinenieren, die von unbehandelten Hunden abgestoßen wurden, als auch

von vorbehandelten Empfängern abgestoßene Schweinenieren schieden bei Beginn der in-vivo-Perfusion vermehrt Kalium aus. Gleichzeitig war im Serum der perfundierenden Hunde die Kaliumkonzentration erhöht. Im weiteren Versuchsverlauf nahm die renale Freisetzung von Kalium ab. Die Natriumkonzentrationen im Urin waren in allen Versuchen - Kontrollversuchen und Versuchen mit Vorbehandlung - geringer als die entsprechenden Serumkonzentrationen (Ausnahme: bei kombinierter Vorbehandlung (Hämodilution, Cyclophosphamid)).

dd) Eiweißausscheidung im Urin

Xenogen perfundierte Schweinenieren schieden eiweißreichen Urin aus. Der Eiweißgehalt nahm im Urin von Nieren, die durch unbehandelte Empfänger abgestoßen wurden, sprunghaft zu. Ähnlich exzessive Anstiege der Eiweißausscheidung im Urin von Schweinenieren konnten bei Vorbehandlung der perfundierenden Hunde nicht beobachtet werden.

ee) Erythrozytenausscheidung im Urin

Die Urine waren in unseren Versuchen erythrozytenhaltig. Es wurden verschiedene Hämaturie-Verlaufsformen gefunden: teils traten kontinuierliche Zunahmen der Erythrozytenausscheidung in Urin auf, teils schwankten die Werte erheblich.

ff) Renale Freisetzung von Enzymen

1. Verhalten der LDH und GOT in Serum und Urin

Lactatdehydrogenase und Glutamat-Oxalacetat-Transaminase wurden während der Abstoßung von Schweinenieren durch unbehandelte und hämodiluierte Hunde vermehrt im Urin ausgeschieden. Soweit bestimmbar, traten maximale Enzymverluste im Urin 45 min bis 5 h nach Beginn der in-vivo-Perfusion auf, erstaunlicherweise nicht gegen Versuchsende. Die Ausscheidung von LDH und GOT im Urin nahm mit fortschreitender Versuchsdauer ab. Bei Abstoßung von Schweinenieren durch hämodiluierte Hunde lagen die Verlustmaxima an LDH und GOT in den Phasen des stärksten Urinflusses. Der Anstieg der LDH-Konzentration im postrenalen Serum begann in Kontrollversuchen, in denen die Nieren mit modifizierter Basislösung vorperfun-

diert worden waren, und in Hämodilutionsversuchen nach 30 - 60 min in-vivo-Perfusion. Mit Basislösung vorperfundierte Nieren, die nach 17,5 min von unbehandelten Hunden abgestoßen waren, verursachten keine Zunahme der LDH-Konzentration im postrenalen Serum; ebenso konnten in diesen Versuchen keine signifikanten Veränderungen der postrenalen Serumkonzentration der GOT gemessen werden. In Kontrollversuchen, in denen mit modifizierter Basislösung vorperfundiert worden war, begann die GOT-Konzentration im postrenalen Serum nach 45 - 60 min Xenoperfusion anzusteigen. Bei Hämodilution des Empfängers war dies erst nach 2 h der Fall. Die postrenale Serum-LDH-Konzentration änderte sich bei Abstoßung von Schweinenieren durch hämodiluierte Hunde vor der GOT-Konzentration.

2. Verhalten der GPT in Serum und Urin

Die Konzentrationen der Glutamat-Pyruvat-Transaminase in Serum und Urin wurden während extrakorporaler Perfusion von Schweinenieren durch Hunde nahezu konstant gefunden.

c) Bestimmung humoraler Antikörper gegen Schweinenierengewebe, -Erythrozyten und -Leukozyten in Seren unbehandelter und vorbehandelter Hunde

aa) Bestimmung komplementbindender Anti-Schweinenieren-Antikörper

In Seren unbehandelter Hunde wurden präformierte, komplementbindende Antikörper gegen Schweinenieren gefunden, deren Titer sich während hyperakuter Abstoßung von Schweinenieren nicht signifikant änderten. Durch Hämodilution gelang es, den Hunden die gegen Schweinenierengewebe gerichteten komplementbindenden Antikörper weitgehend zu entziehen. Durch zusätzliche immunsuppressive Vorbehandlung (ALS bzw. Cyclophosphamid) wurde kein besseres Resultat erzielt. Während der Abstoßung von Schweinenieren durch vorbehandelte Hunde zeigten sich keine wesentlichen Änderungen dieses Antikörperspiegels.

bb) Bestimmung von Anti-Schwein-Hämagglutininen

In Seren unbehandelter Hunde wurden präformierte, Schweineerythrozyten agglutinie-

rende Antikörper nachgewiesen. Die Titer dieser Antikörper blieben während hyperakuter Abstoßung von Schweinenieren durch unbehandelte Hunde nahezu konstant. Durch Hämodilution der Hunde konnten die präformierten Anti-Schwein-Hämagglutinine teilweise eliminiert werden. Je nach Senkung des Antikörpertiters durch Hämodilution wurden während in-vivo-Perfusionen von Schweinenieren durch hämodiluierte Hunde keine bzw. deutliche Absorptionseffekte beobachtet. Eine zusätzliche Vorbehandlung mit ALS bzw. Cyclophosphamid erbrachte den Hämodilutionsversuchen entsprechende Ergebnisse.

cc) Bestimmung von Anti-Schwein-Leukoagglutininen

Die Bestimmung von Schweineleukozyten agglutinierenden Antikörpern in Hundeseren lieferte in allen Versuchsgruppen uneinheitliche Befunde von geringem Aussagewert.

d) Pathologische Befunde an Schweinenieren bei in-vivo-Perfusion durch unbehandelte und vorbehandelte Hunde

aa) Makroskopische Veränderungen

Wenn man von einer nach 8 min abgestoßenen, nicht vorperfundierten Schweineniere absieht, glichen sich bei Abstoßung von Schweinenieren durch Hunde die makroskopischen Veränderungen in ihrem Erscheinungsbild. Der Zeitpunkt ihres Auftretens konnte eindeutig beeinflußt werden. Vorperfundierte Schweinenieren an unbehandelten Hunden veränderten sich nach Beginn der in-vivo-Perfusion makroskopisch eher, als Schweinenieren, die von hämodiluierten Hunden perfundiert wurden. Durch kombinierte Vorbehandlung eines Hundes mit Cyclophosphamid und Hämodilution konnte der Beginn der makroskopischen Veränderungen der Schweinenierenoberfläche nochmals wesentlich verzögert werden.

bb) Mikroskopische Veränderungen

Das Bild der hyperakuten, xenogenen Abstoßungsreaktion in der Schweineniere war bei Vorperfusion der Niere stets von glomerulären und tubulären Schäden geprägt. Glomerulär waren bevorzugt Endothel und Mesangium betroffen. Bei Vorbehandlung

des Empfängers (Hämodilution bzw. Hämodilution/Cyclophosphamid) konfluierten die Glomerulumkapillaren sackartig. Die Veränderungen an Endothel und Mesangium waren nach diesen Versuchen ausgeprägter als in vorperfundierten Schweinenieren, die von unbehandelten Hunden abgestoßen worden waren. Die Tubuli waren immer schwer hypoxisch geschädigt. In allen extrakorporal in-vivo-perfundierten Nieren wurden mittelgradig bis schwer hyperämische Glomerulum- und intertubuläre Kapillaren gefunden. Eine nicht vorperfundierte Schweineniere, die von einem unbehandelten Hund abgestoßen worden war. zeigte im Gegensatz zu den genannten Befunden nur geringe histologische Veränderungen. Granulozytäre Infiltrate wurden häufig beobachtet: in vorperfundierten von unbehandelten Hunden abgestoßenen Schweinenieren nicht regelmäßig, bei in-vivo-Perfusion durch hämodiluierte Hunde fast ausnahmslos. Bei kombinierter Vorbehandlung (Hämodilution/Cyclophosphamid) fehlten die granulozytären Infiltrate.

2. Nachweis eines vasoaktiven Prinzips im Urin von Schweinenieren bei in-vivo-Perfusion durch unbehandelte und vorbehandelte Hunde

Der Urin einer Schweineniere, die von einem unbehandelten Hund perfundiert worden war, wirkte nach i. v. Applikation am Hund blutdrucksteigernd. Auch Urin von Schweinenieren, die durch hämodiluierte Hunde verzögert abgestoßen worden waren, zeigte blutdrucksteigernde Effekte nach Injektion am Hund. Auffallend war hierbei in manchen Versuchen die Häufung der positiven Befunde nach i. v. Gabe von Urinen, die in dem letzten oder den letzten beiden Versuchsdritteln ausgeschieden worden waren.

D. DISKUSSION

I. Die Wertigkeit des Versuchsmodells

Da aus der Literatur bekannt ist, daß Schweinenieren von Hunden in kürzester Zeit abgestoßen werden (59, 69), erforderte die hyperakute Verlaufsform dieses Prozesses die Wahl eines Versuchsmodells, das die Möglichkeit schuf, in kurzen Zeitabständen ein Maximum an Information über Veränderungen in Niere, Blut und Urin zu erhalten. Diesen Anforderungen schien besonders ein extrakorporaler Anschluß des Spenderorgans an das Empfängertier gewachsen zu sein. Zweifellos entspricht diese Versuchsanordnung nicht physiologischen Bedingungen.

Ein besonders wichtiger Parameter in unseren Versuchen war die Durchblutung der perfundierten Nieren, da der RBF bei Abstoßungsreaktionen entscheidend beeinflußt wird. Bei Kontrollperfusionen von Hundenieren im autologen und allogenen System wurde die Leistungsstärke der verwendeten Versuchsanordnung deutlich. So konnte bei autologer Hundenierenperfusion in einem Experiment nach 45-minütiger Gesamtanoxiezeit innerhalb von 4 h ein RBF-Anstieg von 110 auf 450 ml/min/100 g Niere gemessen werden; bei einer allogenen Hundenierenperfusion betrug nach 60-minütiger Gesamtischämiezeit der RBF bei Versuchsbeginn 70 ml/min/100 g Niere und erreichte 290 ml/min/100 g Niere 4 h später. Ähnliche Anstiege des RBF konnten auch Retik et al. (81) bei Auto- und Allotransplantationen, jedoch bereits nach 30 min, registrieren, während Marceau und Mitarbeiter (59) von anfänglichen RBF-Abnahmen in ähnlichen Versuchen berichteten.

Bei extrakorporaler, xenogener in-vivo-Perfusion war die Durchblutung der Nieren wesentlich schlechter. Der bei Perfusionsbeginn gemessene RBF (71,5 $\pm$ 18,3 ml/min/100 g Niere in der Hämodilutionsserie), der nur in den ersten Minuten nach Wiederherstellung der renalen Blutversorgung noch anstieg und nie Werte über 142 ml/min/100 g Niere erreichte, war zwar mit etwa 20 % des Normalwertes von Säugernieren stark erniedrigt, jedoch im wesentlichen nicht Folge eines leistungsschwachen Versuchsmodells; vielmehr addierten sich gerade bei Beginn der in-vivo-Perfusion anoxie-, kälte- und immunologisch bedingte Prozesse, die den RBF nach-

haltig beeinflussen, aber mit der Technik der extrakorporalen in-vivo-Perfusion nicht in direktem Zusammenhang stehen.

Wesentlich für den Ablauf der Xenoperfusionen war die Ausgangslage der Nieren vor Beginn der in-vivo-Perfusion. Zum einen mußten die Nieren mit einer möglichst suffizienten Methode, die unten besprochen wird, konserviert werden, zum anderen galt es, die Gesamtischämiezeit kurz zu halten. Die Gesamtischämiezeit kann in 2 Abschnitte eingeteilt werden, die warme und kalte Ischämiezeit. Die warme Ischämiezeit umfaßte in unseren Experimenten die Zeitspanne zwischen Sistieren der Nierendurchblutung (= Entbluten des Spenders) und Beginn hypothermer Konservierung. Es schloß sich die kalte Ischämiezeit bis zum Beginn der in-vivo-Perfusion an. Neben Zeit- und Konservierungsfaktoren, die das Ausmaß hypoxischer Schädigungen, die wir in unseren Vorperfusionskontrollen nachweisen konnten, wesentlich bestimmten, mußten auch andere mögliche Noxen für die Nieren in Betracht gezogen werden. Das Brühen der getöteten Spenderschweine verursachte dank der guten Isoliereigenschaften von Fett keine nennenswerten Temperaturanstiege im Retroperitonealraum der Tiere. Messungen mit Quecksilberthermometer ergaben maximal 1 - 2°C Temperaturanstieg 30 min nach Entbluten der Tiere. Die Ursache hierfür muß hauptsächlich in der Funktionsunfähigkeit des Wärmetransportsystems der Tiere bei bestehendem Restmetabolismus aller Gewebe gesehen werden.

II. Die Kriterien der hyperakuten Abstoßung

1. Verhalten des RBF während hyperakuter Abstoßungskrisen

Das Verhalten der renalen Durchblutung ist im Zusammenhang mit Abstoßungskrisen in Nierentransplantaten von besonderem Unteresse.

In unseren Versuchen wurde der Verlauf des RBF bei Beginn der in-vivo-Perfusionen nicht nur durch immunologische Faktoren, die unten erörtert werden, sondern zusätzlich durch anoxie- und kältebedingte Prozesse geprägt. Marceau et al. (59) berichteten 1965 u. a. über extrakorporale Nierenperfusionen im Schwein $\rightarrow$ Hund-System unter Verwendung eines unserer Versuchsanordnung sehr ähnlichen Modells und beobachteten RBF-Maxima von 260 $\pm$ 25 ml/min/100 g Niere. Die Ischämiezeit

betrug 20 min, unsere Gesamtischämiezeit hingegen 76,3 ± 3,2 min (berechnet aus allen Versuchen). Obwohl Retik et al. (81) bei Allotransplantation von Hundenieren nach einer mittleren Anoxiezeit von 40 min in 7 Versuchen bei RBF-Messungen unmittelbar nach Wiederherstellung des Transplantatkreislaufs keine Beziehung zwischen Ischämiedauer und renaler Durchblutung zeigen konnten, darf man wohl in unseren relativ langen Anoxiezeiten, besonders der langen warmen Ischämiezeit, eine mögliche Ursache der niederen Nierenausgangsdurchblutung vermuten, zumal in der Hämodilutionsserie eine ziemlich konstante Beziehung zwischen Anoxiezeit und Funktionsdauer nachgewiesen werden konnte und in einigen Kontrollversuchen bei autologer und allogener Hundenierenperfusion eine gewisse Abhängigkeit des RBF von der Ischämiezeit in den ersten Stunden nach Restitution des Nierenkreislaufs auftrat.

Eine weitere Ursache unserer niederen RBF-Werte bei Beginn der in-vivo-Perfusion muß in der Kältevasokonstriktion der Nierengefäße gesehen werden, ein Phänomen, das auch an der denervierten Niere beobachtet werden kann (63). Zwar zeichnet sich die kältebedingte Widerstandserhöhung im Nierenkreislauf durch schnelle Reversibilität bei Wiedererwärmung des Perfusats aus, wie Meßmer und Schmidt-Mende (63) zeigen konnten, jedoch erreichten in unserer Versuchsanordnung wenigstens die Nierenrindenbezirke mehrere Minuten lang nach Revaskularisierung des Organes noch keine normothermen Temperaturen. Eine verzögerte Aufhebung der kältebedingten Widerstandserhöhung in peripheren Nierenbezirken und damit inhomogene Perfusion des Nierengewebes erscheint daher als wahrscheinlich.

Bei in-vivo-Perfusion von Schweinenieren durch unbehandelte Hunde traten die nicht immunologischen Einflüsse auf den RBF in den Hintergrund, da sofort nach Restitution der renalen Durchblutung xenogene Abstoßungsmechanismen hyperakut einsetzten und einen schnellen Zusammenbruch des RBF verursachten. Bei Hämodilution der Empfänger war zwar der RBF bei Beginn der Xenoperfusion infolge kälte- und anoxiebedingter Prozesse ebenfalls niedrig, nahm aber in mehreren Versuchen kurzfristig zu. Erst dann begann - nach 10 bis 45 min - eine Phase allmählicher Verschlechterung der renalen Durchblutung - u. a. ein Beweis für die erfolgreiche Verzögerung der hyperakuten Abstoßung in unserem System. Über Veränderungen des RBF im Zusammenhang mit Abstoßungskrisen wurde mehrfach berichtet. Retik

et al. (81) konnten bei Allotransplantationen die wesentliche Bedeutung der corticalen Ischämie zeigen, die noch vor Abnahme des RBF und Manifestierung im histologischen Präparat eintritt. Die intrarenale Verteilung des RBF verändert sich hierbei in den einzelnen Kompartimenten besonders zugunsten des medullären Teils. Die gleiche Gruppe (83) demonstrierte auch die Korrelation der Beeinflussung von Abstoßungskrisen und corticaler Ischämiezeichen bei immunsuppressiven Maßnahmen. Die Entstehung der corticalen Ischämie scheint in Frühstadien allogener Abstoßungsreaktionen durch eine vasomotorische Komponente bestimmt zu werden, während im weiteren Verlauf nicht vasoaktive Prozesse dominieren dürften (37). Das Auftreten vasoaktiver Substanz(en), das wir in auffallender Häufigkeit besonders in gegen Versuchsende ausgeschiedenem Urin nachwiesen, könnte unter Umständen dem von Hollenberg und Mitarbeitern (37) beschriebenen Mechanismus entsprechen. Lewis et al. (53) konnten in klinischen Untersuchungen aufzeigen, daß bei klinisch und pathologisch-anatomisch gesicherten Abstoßungszeichen der RBF in transplantierten Nieren immer unter 50 ml/min/100 g Niere lag. Ähnliche Untersuchungen in xenogenen Systemen liegen bisher noch nicht vor.

2. Nierenfunktionsänderungen während hyperakuter Abstoßungskrisen

Konzentrationsänderungen der LDH und GOT im Serum der perfundierenden Hunde und die Bestimmung der Ausscheidung dieser Enzyme im Urin der Schweinenieren scheinen ähnlich dem RBF ein guter Indikator für das Auftreten von Abstoßungsreaktionen und damit verbundenen Funktionsverschlechterungen der Niere zu sein, wie die Ergebnisse der in dieser Arbeit beschriebenen Versuche zeigen. Es wurden bereits Untersuchungen publiziert, die ergaben, daß Enzymbestimmungen frühzeitig Hinweise auf einsetzende Abstoßungsreaktionen zu liefern vermögen (9, 47, 52, 74). Auch für die Vitalitätsbeurteilung prospektiver Transplantate sollen sich Enzymmessungen im Perfusat bewähren (3). Die Bestimmung der LDH-Konzentration im postrenalen Serum scheint in unserer Versuchsanordnung als erste prognostisch-diagnostische Ergebnisse liefern zu können. In Abbildung 7 sind die Serumkonzentrationen und die Ausscheidung im Urin von LDH und GOT eingetragen und mit dem

RBF in diesem Hämodilutionsversuch in Beziehung gesetzt. Man erkennt deutlich, daß der RBF das erste Kriterium einer einsetzenden Abstoßungskrise ist; die LDH-Serumkonzentration steigt kurz nach Beginn der Störung des RBF an. Die Bewertung der Enzymmessungen ist problematisch, da, wie die histologischen Präparate eindeutig zeigten, das an LDH und GOT relativ reiche Nierengewebe bereits vor Versuchsbeginn hypoxisch geschädigt war. Deshalb müssen die anfangs gewonnenen Enzymwerte - besonders im Urin - unspezifische hypoxische Schäden der Nieren widerspiegeln. Zwar werden die Absolutwerte der LDH- und GOT-Ausscheidung im initial produzierten Harn von xenoperfundierten Schweinenieren wegen dieses Effekts unter Umständen überhöht sein, da sich unspezifische hypoxische Nierenschäden und spezifische Abstoßungsphänomene addieren dürften, die Maxima der Enzymausscheidung im Urin nach 2 bis 5 h sind aber wahrscheinlich im wesentlichen spezifisch und nicht Ergebnis der Ausschwemmung von Enzymen, die während der Anoxiezeit aus hypoxischem Nierengewebe freigesetzt wurden.

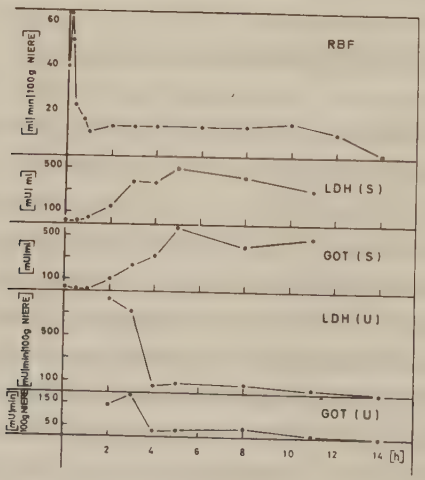

Abbildung 7: Verhalten der renalen Durchblutung (RBF), postrenalen LDH- und GOT-Serumkonzentrationen (S) und Ausscheidung dieser Enzyme im Urin (U) von Schweinenieren während der in-vivo-Perfusion durch einen hämodulierten Hund.

Bestimmungen des GPT-Gehalts in Schweinenierengewebe ergaben keine nennenwerten Konzentrationen. Hieraus läßt sich das Verhalten der GPT im postrenalen Serum und Urin während aller Versuche erklären.

Die Nieren nahmen zeitweise ihre Funktionen nach Beginn der in-vivo-Perfusion in begrenztem Umfang wieder auf. Besonders aufschlußreich war der Sauerstoffverbrauch, der in der Hämodilutionsserie in einem Versuch (2) etwa 40 % des Normalwertes von Säugernieren erreichte. Bei Vorbehandlung der Empfängertiere nahm der Sauerstoffverbrauch der extrakorporal perfundierten Nieren allmählich ab. Im Unterschied hierzu sank die Sauerstoffaufnahme von Schweinenieren aus dem Blut unbehandelter Hunde sehr schnell. Da 75 % des renalen Sauerstoffverbrauchs auf die Rückresorption des filtrierten Natriums entfallen, kann u. a. aus diesem Grunde der Natriumgehalt im Urin der Schweinenieren erhöht gewesen sein. Für die sich öfters entwickelnden Polyurien in Hämodilutionsversuchen könnte sich aus dem angeführten Mechanismus eine denkbare Erklärung ergeben. Eine durch verminderte Sauerstoffaufnahme reduzierte tubuläre Natriumrückresorption könnte Natriuresen induziert haben. Ein fortschreitender Funktionsverlust der Vasa recta und der Henle'schen Schleifen, der auf Grund der beobachteten pathologisch-histologischen Nierenveränderungen durchaus vorstellbar ist, ist als mögliche Ursache der Abnahme der Konzentrierfähigkeit der Nieren ebenfalls zu diskutieren. Eine Umverteilung des RBF zugunsten medullärer Kompartimente, wie sie Retik und Mitarbeiter (81) bei Abstoßungsreaktionen im allogenen System zeigten, dürfte für den Zusammenbruch des osmotischen Gradienten im Nierenmark entscheidend sein, da dieser teilweise durch die "physiologische Minderdurchblutung" des Nierenmarks unterhalten wird. Bei Steigerung des medullären Kreislaufvolumens werden Natrium und Harnstoff, die zur Erhaltung dieses osmotischen Gradienten beitragen, vermehrt aus dem Interstitium abtransportiert.

Die Bewertung der Kaliumausscheidung ist schwierig. Zum einen konkurrieren Kalium- und Wasserstoffionen beim Austausch mit Natriumionen miteinander, zum anderen wird Kalium durch die histologisch nachgewiesenen massiven cytolytischen Prozesse freigesetzt.

Die extreme Proteinurie in unseren Versuchen muß mit Strukturdefekten und sich daraus ergebenden Permeabilitätsänderungen der Wände von Glomeruluskapillaren

in Zusammenhang gebracht werden. Zwar war die Basalmembran sowohl in Kontrollnieren als auch in Nieren, die von vorbehandelten Hunden perfundiert wurden, erhalten, jedoch konnten oft Aufsplitterungen gefunden werden. Eindeutige Unterbrechungen waren nicht sicher nachweisbar. Während die Proteinurie von Kontrollnieren mit zunehmender Perfusionsdauer zunahm, waren die Eiweißverluste durch Nieren, die von einem vorbehandelten Hund perfundiert wurden, zeitunabhängig.
Die oft in unseren Versuchen beobachtete Hämaturie konnte histologisch nicht verifiziert werden, da nur selten Erythrozyten in Bowman'schen Kapselräumen gefunden wurden. Wahrscheinlich ist die Ätiologie der Hämaturie in unseren Experimenten vielschichtig. Neben immunologisch bedingten Schädigungen der Basalmembran muß auch eine Traumatisierung des Ureters durch Katheterisierung in Betracht gezogen werden, zumal die Empfängertiere heparinisiert waren.

3. Pathologisch-anatomische Nierenveränderungen während hyperakuter Abstoßungskrisen

Die Farbveränderungen der Oberfläche xenogen perfundierter Nieren, die vorperfundiert worden waren, sind ein gutes Kriterium ablaufender Abstoßungsreaktionen. Das verzögerte Auftreten nach Hämodilution der Empfängertiere ist ein Hinweis auf die Wirksamkeit der angewandten Methode. Die an einer Niere, die von einem kombiniert vorbehandelten Hund (Hämodilution/Cyclophosphamid) perfundiert wurde, beobachteten noch später auftretenden Farbveränderungen waren überraschend; es ist jedoch nicht möglich aus einem Stichversuch entscheidende Schlüsse zu ziehen.
Die Gewichtszunahmen xenogen perfundierter Nieren waren sehr unterschiedlich. Die geringen Gewichtsänderungen von Nieren, die nur mit Basislösung vorperfundiert und durch unbehandelte Hunde nach im Mittel 17,5 min abgestoßen worden waren, zeigten, daß dieser Parameter kein sicheres Maß für das Fortschreiten von Abstoßungsreaktionen sein kann. Der Grad der Stauungshyperämie, der wesentlich die Gewichtszunahmen bestimmt, ist offenbar stark zeitabhängig, so daß er sich bei verzögertem Verlauf hyperakuter Abstoßungsreaktionen stärker auswirken kann.
Unsere histologischen Befunde sprechen eindeutig für hyperakute Abstoßungsreaktio-

nen in Nieren, die von hämodiluierten Hunden abgestoßen wurden. Der Vergleich mit einer aus einem nach 85 min Perfusion abgebrochenen Versuch stammenden Niere zeigte, daß sich Abstoßungsreaktionen von hämodiluierten Hunden an xenoperfuniderten Nieren erst allmählich histologisch faßbar manifestieren. Dies erklärt auch die manchmal nur geringfügigen Veränderungen hyperakut durch unbehandelte Hunde abgestoßener Schweinenieren, so daß manchmal mehr das Bild eines akuten Nierenversagens gefunden wurde.

III. Die Beeinflußbarkeit der hyperakuten Abstoßungsreaktion

1. Die Wirkung der Vorperfusion

Unsere Konservierungstechnik mußte mehreren Anforderungen entsprechen:

a) schnelle Kühlung des Nierengewebes

b) möglichst vollständige Ausspülung von Erythrozyten

c) einfache Handhabung unter Schlachthofbedingungen.

Aus den zahlreichen Methoden, die derzeit bei Organkonservierungen Verwendung finden, wählten wir die nicht pulsierende, kontinuierliche, hypotherme Schwerkraftperfusion mittels einer Basislösung, die bei Bedarf modifiziert wurde.

Die Wirkung der Hypothermie beruht im wesentlichen auf einer starken Drosselung des Stoffwechsels abgekühlter Gewebe.

Die Verwendung einer Trägerlösung, die in ihrer Elektrolytzusammensetzung dem Serum zumindest ähnlich ist, scheint auf Grund verschiedener Arbeiten empfehlenswert (4, 58). Die Zugabe eines onkotisch aktiven Kolloids hat sich bewährt (4, 43, 58, 103). Dextran-40 rückte hierbei in den Mittelpunkt des Interesses. Das bei Perfusionen oft auftretende Ödem (51) wird durch die hohe Wasserbindungskapazität von Dextran (= $\overline{M}_W$ 40000) trotz relativ rascher renaler Ausscheidung (die Nierenschwelle für Dextran liegt bei etwa 50000 $\overline{M}_W$) wesentlich verringert. Außerdem trägt zur Unterdrückung der Ödembildung die hohe Dextran-40-Konzentration von 50 g/l Trägerlösung bei, die damit etwa 100 % über der blutisoonkotischen Konzentration liegt. Ein weiterer Vorteil des Dextran-40-Zusatzes ergibt sich aus

dessen Anti-sludge-Effekt auf geformte Blutelemente. Es ist bekannt, daß Dextrane mit einem $\bar{M}_W$ von 30000 bis 40000 am stärksten disaggregierend wirken (28). Kerstein et al. (43) und Hitchcock und Mitarbeiter (35) wiesen auf Grund ihrer günstigen Resultate auf diesen Vorteil hin. Die möglichst vollständige Erythrozytenauswaschung aus dem Organ vor Revaskularisierung ist besonders wichtig; als deutlicher Beweis hierfür kann die bereits nach 8 min vollständige Abstoßung einer nicht perfundierten Niere (Nr. 19) gewertet werden. Nach Perfusion mit 1000 ml Trägerlösung, die Dextran-40 enthielt, fiel die fast völlige Weißfärbung von Mark und Rinde auf. Dieses Phänomen kann als makroskopisches Kriterium für eine genügende Erythrozytenausspülung gewertet werden. Histologische Präparate hypotherm vorperfundierter, aber nicht an einen Hund angeschlossener Nieren enthielten extrem wenig Erythrozyten. Das Hinzufügen von 2 g Glucose zu 1000 ml Trägerlösung scheint nach Beobachtungen von Largiadèr (51) zum Unterhalt des in Hypothermie ablaufenden Basalstoffwechsels zu genügen. Der in dieser Lösung a priori physikalisch gelöste Sauerstoff entsprach in den Versuchen von Largiadèr ebenfalls den Bedürfnissen des reduzierten Stoffwechsels bei Hypothermie.

Ein Mannitzusatz zur Trägerlösung sollte wegen vollständiger glomerulärer Filtrierbarkeit und geringer Rückresorbierbarkeit möglichst schnell eine Osmodiurese induzieren.

Alle bisher genannten Zusätze zur Trägerlösung wurden in "Basislösung-Kontrollen" angewendet (200 ml). Die Nieren waren nach 17,5 min abgestoßen. Wenn Schweinenieren mit 1000 ml Basislösung, der noch Heparin, Procain und Bicarbonat nach Largiadèr (51) zugesetzt waren, vorperfundiert wurden, verlief die Abstoßungsreaktion verzögert; der RBF sistierte erst nach 107,1 min. Die Modifikation der Basislösung war vermutlich eine wesentliche Ursache der Verbesserung unserer Ergebnisse in dieser Versuchsgruppe.

Mehrfach wird in der Literatur auf die Bedeutung des pH für die Effektivität von Perfusionslösungen hingewiesen (5, 51, 103). Durch Beimengung einer entsprechenden Menge Bicarbonat sollte dieser Erkenntnis Rechnung getragen werden. Procain als gefäßerweiternde Substanz hat sich in verschiedenen Versuchsmodellen bewährt (20, 40, 103). Die Wirkungsweise von Heparin ist evident. Der hiermit mögliche Erfolg wird beispielsweise in einer Arbeit von McMillan (61) deutlich, der bei

mäßig funktionierenden Leichennierentransplantaten nach Heparinisierung der Empfänger signifikante Verbesserungen der Nierenfunktionen beobachtete.
Neben der Zugabe von Bicarbonat, Procain und Heparin zur Basislösung ist eine ausgiebige Perfusionsmenge von Wichtigkeit.

2. Die Wirkung der Hämodilution

Grundvoraussetzung für das Studium der Wirkung der Hämodilution auf hyperakute Abstoßungsreaktionen war die Unschädlichkeit der Methode. Trotz reichlichen Entzugs von Pufferkapazität können extrem hämodiluierte Hunde bei freigegebener Spontanatmung kleinere pH-Verschiebungen gut ausgleichen (38). Die Verminderung der Erythrozytenzahl nach Hämodilution der Empfängertiere bedingte zwar eine merkliche Reduktion der Sauerstoffaufnahme der Nieren aus dem Hundeblut, wie ein Vergleich mit Kontrollversuchen zeigt, diese negative Auswirkung der Hämodilution wurde jedoch durch das spontane Ansteigen des Hämatokrits, das im wesentlichen durch lienale Erythrozytenausschüttung erklärbar ist, und die Reinfusion autologer Erythrozyten ausgeglichen. Durch Hämodilution der Empfängertiere konnte eine deutliche Verzögerung xenogener, hyperakuter Abstoßungskrisen erreicht werden. Dieses Ergebnis läßt sich durch die spezifischen Veränderungen im Empfänger nach Hämodilution erklären.

a) Die Hämodilution und ihr Einfluß auf die Blutviskosität

Bei Vergleichen unserer RBF-Werte mit RBF-Angaben in der Literatur muß die Reduktion der Blutviskosität durch Hämodilution berücksichtigt werden. Die Abnahme der Blutviskosität betrug in dem verwendeten Versuchsmodell zwischen 50 und 75 %, je nachdem bei welchem Schergrad gemessen wurde. Die Viskosität von Hundeblut betrug vor Versuchsbeginn (Hämatokrit 39,8) bei Schergraden von 230 sec^{-1} und 5,8 sec^{-1} 4,31 bzw. 12,84 c. P. Nach extremer Hämodilution (Hämatokrit 7,2) wurden bei gleichen Schergraden 2,14 bzw. 3,2 c.P. gemessen (94). Mögliche Einflüsse dieses Befundes quantitativ zu erfassen, ist schwierig. Generell können jedoch verbesserte Strömungsbedingungen in den xenoperfundierten Schweinenieren

und daraus resultierende unspezifische Überlebenszeitverlängerungen angenommen werden.

b) Die Hämodilution und ihr Einfluß auf den Proteinspiegel im Serum

aa) Elimination präformierter humoraler Antikörper

Bei hyperakut verlaufenden Abstoßungsreaktionen wurden vielfach präformierte, humorale Antikörper als Ursache postuliert und teilweise auch indirekt nachgewiesen. Bei Menschennierenallotransplantationen mit hyperakuten Abstoßungsreaktionen konnten Kissmeyer-Nielsen et al. (45), Starzl et al. (91), Terasaki et al. (95) und Williams und Mitarbeiter (101, 102) in den Seren der Empfänger präformierte Antikörper gegen Thrombozyten, Nierengewebe und Leukozyten nachweisen. Es wird angenommen, daß die humoralen Antikörper entscheidend das hyperakute Geschehen, das meist etwa 1 h nach Wiederherstellung des Nierenkreislaufs auftrat, bestimmt haben. Stewart et al. (93) untersuchten 1969 die Bedeutung präformierter, lymphozytotoxischer Antikörper im gleichen Zusammenhang.

Da ähnlich schnelle Abstoßungsreaktionen bei Transplantation vaskularisierter Organe über Speziesgrenzen hinweg auftraten, erschien ein von präformierten, humoralen Antikörpern ausgehender Reaktionsablauf durchaus möglich. Clark et al. (15) wiesen bereits 1964 nach Beobachtung der hyperakuten Abstoßung von Kaninchennieren durch Hunde auf diese Möglichkeit hin. 1966 gelang dieser Gruppe (17) der Nachweis präformierter Antikörper auf Endothelzellen von Transplantaten nach xenogenen, hyperakuten Abstoßungsreaktionen. Der Auffassung Clark's und Mitarbeiter schlossen sich Marceau et al. (59) an. Perper und Najarian (69) wiesen präformierte, cytotoxische Antikörper nach, die bei hyperakuter Abstoßung von Schweinenieren durch Hunde eine Rolle spielten.

Durch Hämodilution konnten wir die präformierten Antikörper gegen Schweineerythrozyten und Schweinenierengewebe im Hundeserum deutlich reduzieren. Die Elimination hämagglutinierender Antikörper im Empfänger war möglicherweise von untergeordneter Bedeutung. Altman (1) konnte jedenfalls bei Nierenallotransplantationen zeigen, daß Abstoßungsreaktionen trotz hoher Hämagglutinationstiter im Empfänger nicht beschleunigt ablaufen. Der Abfall der komplementbindenden Anti-

Spendernieren-Antikörper nach extremer Hämodilution dürfte in unseren Versuchen entscheidend gewesen sein. Ein Vergleich unserer Ergebnisse mit Befunden von Marceau et al. (59), die die Nierenperfusion bei einem RBF von 25 ml/min/100 g Niere abbrachen, was nach 4,8 ± 0,35 min bei in-vivo-Perfusion von Schweinenieren durch unbehandelte Hunde der Fall war, zeigt, daß unsere RBF-Werte in der Hämodilutionsserie bis zu 8 h über dieser Marke lagen. Zweifellos waren die Nieren in unseren Versuchen bei Unterschreitung des von Marceau und Mitarbeitern angegebenen RBF-Kriteriums bereits stark geschädigt, jedoch noch nicht vollständig abgestoßen. Um die weitere Entwicklung der Abstoßungsreaktion verfolgen zu können, warteten wir, bis der RBF 0 ml/min/100 g Niere betrug. Die unmittelbar nach Beginn der in-vivo-Perfusion in 3 Versuchen der Hämodilutionsserie (5, 6, 8) beobachteten Hämagglutinationstitersenkungen waren wahrscheinlich eine Reaktionsfolge hämagglutinierender Antikörper mit restlichen Schweineerythrozyten in den Nieren. Ob der angeführte Mechanismus auch zur Erklärung der Hämagglutinationstiterabnahmen in einem anderen Hämodilutionsversuch (6), dem Hämodilution-Cyclophosphamid-Versuch (9), und zwei Kontrollversuchen (10, 17) herangezogen werden kann, ist in Anbetracht der langen Latenzperiode bis zum Auftreten des Phänomens fraglich. Eine Bewertung des Verhaltens Schweineleukozyten agglutinierender Antikörper in Hundeseren während der Xenoperfusionen ist nicht möglich, da unsere Ergebnisse unspezifisch zu sein scheinen.
Der Entzug komplementbindender Anti-Schweinenieren-Antikörper durch extreme Hämodilution wird besonders wirksam, da gleichzeitig der Komplementspiegel geändert wird.

bb) Elimination von Komplement

Die Bedeutung des Komplements im Zusammenhang mit allogenen und xenogenen Abstoßungsreaktionen ist lange bekannt.
Guiney et al. (29) wiesen 1964 geringe Abnahmen des C'H50-Titers und erhebliche Verringerungen der C'2 Komponente des menschlichen Komplements bei Abstoßungsreaktionen nach allogenen Nierentransplantationen nach. Bei allogenen Hauttransplantationen an Mäusen beobachtete Weitzel (100) bei C'5-Defekten im Empfängerstamm verlängerte Überlebenszeiten.

Bei xenogenen Abstoßungsreaktionen an Nieren entdeckten Clark und Mitarbeiter (15), daß innerhalb von 5 min zwischen 23 % und 52 % des durch das Nierentransplantat transportierten Gesamtkomplements in der Niere festgehalten wurden. 1965 demonstrierten Clark et al (16) die Gesamtkomplement- und C'2-Aufnahme in Transplantaten bei hyperakuten Abstoßungsreaktionen an Menschen und Tieren. 1966 wies dieselbe Gruppe (17) erneut auf die Bedeutung des Komplements bei xenogenen Abstoßungsreaktionen hin und stellte nach Inaktivierung des C'-Systems im Empfänger fest, daß "Antikörper für sich nicht sofort die Thrombozyten- und Leukozytenbeteiligung an der Abstoßungsreaktion bewirken können, sondern anscheinend der Komplementaktivität bei der Entwicklung dieser Transplantatschädigungen bedürfen". Perper und Najarian (69) trugen zur Sicherung dieser Befunde durch Messung der Gesamtkomplementaktivität im Verlauf der Abstoßung von Schweinenieren durch Hunde bei. Snyder et al. (89) bewiesen durch Anwendung eines aus Kobragift gewonnenen Faktors, der selektiv die C'3c Aktivität herabsetzt, erneut die Bedeutung des Komplements bei hyperakuten, xenogenen Abstoßungsreaktionen. Gewurz et al. (24) fanden mit der gleichen Methode ebenfalls verlängerte Überlebenszeiten von Xenotransplantaten. Durch extreme Hämodilution - wie in unserer Versuchsanordnung - wird die C'H50-Aktivität im Hundeserum um 93 % gesenkt (62). Dieser Befund entspricht der von Klövekorn (46) beschriebenen weitgehenden Elimination der ß-Globuline durch extreme Hämodilution. Außerdem kann eine Komplementspeicherung in den xenoperfundierten Schweinenieren nachgewiesen werden (62). Da die komplementbindenden, gegen Schweinenierengewebe gerichteten, präformierten Antikörper im Hundeserum nur in Anwesenheit von Komplement ihre Wirkung entfalten können, dürfte die Verlängerung der Überlebenszeiten von Schweinenieren an hämodiluierten Hunden durch Entzug dieser Antikörper und des Komplements wesentlich bedingt sein.

c) Die Hämodilution und ihr Einfluß auf zelluläre Blutelemente

aa) Elimination von Thrombozyten

Ebenso wie Komplement scheinen Thrombozyten für Abstoßungsmechanismen von Bedeutung zu sein.

In allogenen Organtransplantaten wurden mehrfach nach Abstoßung Thrombozytenaggregate morphologisch gesichert (44, 72). Porter (72) vermutet, daß die Lokalisation der Thrombozytenaggregate mit der "Bindung" von γ-Globulinen an Gefäßendothel in Zusammenhang steht. Eine Beeinflussung von Plättchenablagerungen in Organtransplantaten wurde wiederholt versucht (60, 61, 85). Mowbray et al. (65) konnten durch Cr^{51}-Markierung Thrombozytenansammlungen in Nieren bei Abstoßungskrisen feststellen. Ljungqvist et al. (54) wiesen auf die herabgesetzte Lebensdauer von Blutplättchen bei Abstoßungsreaktionen hin.

Bei hyperakuten Abstoßungen wurden ebenfalls Thrombozytenaggregate in den betroffenen Organen histologisch nachgewiesen (16, 55, 56, 57). Mehrfach wurden starke Thrombozytenabnahmen in Blut gemessen, das transplantierte Organe durchströmt hatte (15, 59, 84). Clark et al. (14) diskutierten 1966 die mögliche Bedeutung zweier verschiedener Thrombozytenpopulationen bei der Abstoßung vaskularisierter Xenotransplantate durch Hunde.

Da durch extreme Hämodilution - wie in unserer Versuchsanordnung - die Thrombozyten im Hundeserum auf 31 % des Normalwertes absinken (62), muß hierin ein weiterer Grund für die verlängerten Überlebenszeiten von Schweinenieren an hämodiluierten Hunden gesehen werden. Die Tatsache, daß in unseren Versuchen nur in einer Niere (Nr. 14), die von einem unbehandelten Hund perfundiert worden war, fragliche Thrombozytenansammlungen gefunden werden konnten, steht im Widerspruch zu den aus der Literatur bekannten Befunden. Auch in Nieren, die von hämodiluierten Hunden perfundiert werden, müßten trotz niedriger Thrombozytenzahlen im Hundeserum angesichts der langen in-vivo-Perfusionszeiten Aggregationen sichtbar werden, zumal in derartigen Versuchen renale Thrombozytenverluste durch Plättchenzählung im arteriellen und venösen Schenkel des Perfusionssystems nachweisbar sind (62).

bb) Elimination von Leukozyten

Im Verlauf von Abstoßungskrisen wurden mehrfach neben Thrombozytenablagerungen auch Leukozytenaggregate teils mikroskopisch teils mittels Zählmethoden in Xenotransplantaten festgestellt (15, 16, 59). In den Nieren unserer Versuche konnten häufig leukozytäre Infiltrate glomerulär und in intertubulären Kapillaren be-

obachtet werden, wobei eine Häufung dieser Befunde in den Hämodilutionsversuchen auffiel. Da durch die gewählte extreme Hämodilution die Leukozytenzahl im Hundeserum um 48 % sinkt (62), muß dieses Ergebnis im Rahmen der möglichen xenogenen Abstoßungsmechanismen diskutiert werden.

3. Die Wirkung immunsuppressiver Therapie

a) Vorbehandlung mit Antilymphozytenserum

Die Wirkung von Antilymphozytenseren wird in der neueren Literatur mit der Zerstörung peripherer Lymphozyten erklärt (Überblick bei 82). Auf präformierte, humorale Antikörper scheinen Antilymphozytenseren keinen Einfluß ausüben zu können (66). Da präformierte, humorale Antikörper wesentlich am xenogenen Abstoßungsmechanismus beteiligt sind, nicht hingegen periphere Lymphozyten, erbrachte ein Stichversuch mit kombinierter Vorbehandlung des Empfängertieres (Hämodilution/ALS) erwartungsgemäß den Hämodilutionsversuchen entsprechende Ergebnisse. Deshalb wurde dieser Versuch gemeinsam mit den Hämodilutionsversuchen ausgewertet. Zwar wurde die Beeinflussung heterologer und xenogener Abstoßungsreaktionen an Hauttransplantaten nach Gabe von Antilymphozytenserum beschrieben (48), jedoch können Hauttransplantate bezüglich ihres Abstoßungsmechanismus nicht mit stark vaskularisierten Organen verglichen werden. Untersuchungen von Calne und Mitarbeiter (9) über die mögliche Beeinflussung heterologer und xenogener Abstoßungsreaktionen an transplantierten Lebern durch Verabreichung von Antilymphozytenserum erlauben noch keine Schlußfolgerungen.

b) Vorbehandlung mit Cyclophosphamid

Durch Applikation von Cyclophosphamid sollte eine möglicherweise am xenogenen Abstoßungsmechanismus beteiligte zelluläre Komponente ausgeschaltet werden. Da unter anderem Granulo- und Thrombopoese bei Verabreichung dieses Zytostatikums beeinträchtigt werden (31, 42, 86), erschienen noch bessere Ergebnisse durch

kombinierte Vorbehandlung (Hämodilution/Cyclophosphamid) als durch Hämodilution immerhin möglich. Die verwendete Dosis von 100 mg Cyclophosphamid pro kg lag weit über der DL_{50}, die beim Hund etwa 40 mg/kg[1)] beträgt. Der Leukozytenabfall im peripheren Blutbild von 8200 Leukozyten/mm^3 Blut im unbehandelten Empfängertier auf 800 Zellen/mm^3 Blut 12 h nach Applikation (= vor Beginn der Hämodilution) von Cyclophosphamid bewies die Wirksamkeit der Prämedikation, obwohl der Abstand zwischen zusätzlicher medikamentöser Vorbehandlung und Beginn der in-vivo-Perfusion nicht ideal gewesen sein dürfte.

Die Bewertung dieses Einzelversuchs ist schwierig, zumal das Empfängertier vorzeitig ad exitum kam. Auffallendes Ergebnis war die deutlich gegenüber den Hämodilutionsversuchen verzögert einsetzende blaue Verfärbung der Niere. Außerdem fiel das Fehlen leukozytärer Infiltrationen auf, die in den meisten Schweinenieren, die von hämodiluierten Hunden perfundiert worden waren, gefunden wurden. Dieser Befund ist in Anbetracht des durch Cyclophosphamid induzierten Leukozytenabfalls wahrscheinlich nicht nur mit der relativ kurzen in-vivo-Perfusionszeit der Niere zu erklären. Insgesamt gesehen schien die Niere in diesem Versuch etwas schlechter als der Durchschnitt der Nieren in Hämodilutionsversuchen zu arbeiten. Weitere Experimente müssen zur Klärung durchgeführt werden.

IV. Xenogene Abstoßungsmechanismen

Grundlage hyperakuter Abstoßungsmechanismen im xenogenen System scheinen präformierte, humorale Antikörper zu sein. Der Nachweis derartiger Antikörper erlaubt noch keine Rückschlüsse auf die Entstehungsweise. Folgende Möglichkeiten können diskutiert werden:

1. Genetisch fixierte Antikörperbildung. Dieser Mechanismus ist zwar naheliegend, entbehrt aber gesicherter Grundlagen.
2. Antikörperbildung durch persorptive Aufnahme bestimmter Antigene. In diesem Zusammenhang sind Befunde von

---

1) Werksangabe der Asta Werke AG, Brackwede (Westf.)

Way et al. (99) von Interesse, die fanden, daß Transplantate zwischen Fleischfressern und Paarzehern schnell abgestoßen werden, innerhalb beider Gruppen jedoch wesentlich verzögerte Abstoßungsreaktionen typisch sind.

3. Antikörperbildung durch permanenten Kontakt eines Individuums mit seiner Umgebung und hieraus sich ergebende bakterielle, parasitäre etc. Kontamination. Die gebildeten Antikörper könnten durch Kreuzreaktionen im xenogenen System wirksam werden. Diese These ist zwar bestechend, experimentell aber nicht gesichert.

Wie oben beschrieben, konnten durch extreme Hämodilution präformierte Antikörper verschiedener Funktion weitgehend entzogen werden. Da Movat et al. (64) in vitro zeigen konnten, daß die Bildung von Thrombozytenaggregaten durch Freisetzung von Adenosindiphosphat (ADP) während der thrombozytären Phagozytose von Antigen-Antikörperkomplexen induziert wird, läßt sich hieraus unter Umständen die vielfach beschriebene (15, 16, 55, 56, 57, 59, 84) Bedeutung der Thrombozyten für hyperakute Abstoßungsreaktionen verstehen. Bei dieser in vitro vor sich gehenden Thrombozytenaggregation wurde gleichzeitig eine Freisetzung von Histamin, Serotonin und weiterem ADP beobachtet. Spaet und Zucker (90) wiesen bei der Bildung von Thrombozytenaggregaten durch Bindegewebs- oder Thrombinwirkung einen nahezu identischen Mechanismus nach. Hansson (32) gab ADP intraarteriell bei normotherm perfundierten Katzennieren. Es trat im venösen Blut, das die Niere durchströmt hatte, im Vergleich zum arteriellen Blut ein Thrombozytenabfall ein. Im mikroskopischen Präparat fanden sich in den Glomerulumkapillaren zahlreiche Thrombozytenaggregate. Henson (33) stellte fest, daß Thrombozyten aggregieren, wenn sie durch einen C'3-Immun-Adhaerenz-Prozeß an Antigen-Antikörper-Komplement-Komplexe fixiert werden. Anschließend dürfte durch Aktivierung der Komplementkomponenten C'5-9 eine Lysis der Thrombozytenmembranen ausgelöst werden. Vasoaktive Amine, Nukleotide und intrazelluläre Enzyme werden hierdurch freigesetzt. Auch eine nicht lytische, komplementabhängige Abgabe vasoaktiver Amine und Nukleotide, aber nicht intrazellulärer Enzyme aus Thrombozyten wird von Henson (33) als weitere Möglichkeit nach Ablauf der C'3-Immun-Adhaerenz-Prozesses an Thrombozyten auf-

gezeigt. Neutrophile können die thrombozytäre Freisetzung vasoaktiver Substanzen verstärken (34). Zwar konnten durch Vergleich der Dosis-Wirkungskurven einige der genannten vasoaktiven Substanzen in unseren Versuchen als mögliches vasokonstringierendes Prinzip ausgeschlossen werden, dennoch könnten gerade Nukleotide in diesem Zusammenhang besonders interessant sein. Busch und Mitarbeiter (7) fanden nach bestimmten Anoxiezeiten in Nieren erhebliche Abbauraten von Purinnukleotiden in Nukleoside oder Basen; so waren im Nierengewebe von Kaninchen 15, 30 und 60 min nach Beginn der Ischämiezeit 41, 55 bzw. 72 % der Nukleotide katabolisiert. Da derartige Substanzen vasoaktiv wirken können, bietet sich hier unter Umständen ein Weg zur Identifizierung des von uns beobachteten vasoaktiven Prinzips an. Die hohe Geschwindigkeit hyperakuter, xenogener Abstoßungsreaktionen, wie wir sie bei der Abstoßung einer nicht vorperfundierten Niere durch einen unbehandelten Hund (Nr. 19) im Extremfall beobachten konnten, läßt vasokonstringierende Substanzen als Reaktionsmechanismus denkbar erscheinen. Das protrahierte Auftreten derartiger Substanz(en) in den Hämodilutionsversuchen spräche für eine zumindest teilweise erfolgreiche Unterbrechung des hyperakuten Abstoßungsgeschehens. Die Beobachtungen von Busch et al. könnten bei intarenaler Zytolyse, die sich im Rahmen einer Abstoßungsreaktion bei Verschlechterung des RBF entwickelt, ebenso gültig sein. Das Fehlen des vasokonstringierenden Effekts bei Beginn der in-vivo-Perfusion könnte dann durch die Vorperfusion erklärt werden.
Neben der Bildung von Thrombozytenaggregaten und der Wirkung vasokonstriktorischer Substanz(en) können die von uns beobachteten Leukozyteninfiltrate wahrscheinlich zur Senkung des RBF beitragen.
Die Bedeutung des Komplements für hyperakute Abstoßungen ist komplex. Es wurde zwar bereits auf die entscheidende Rolle komplementbindender Anti-Schweinenieren-Antikörper hingewiesen, es konnten nach extremer Hämodilution starke Komplementtiterabfälle gemessen werden, das Restkomplement wurde großenteils in den xenoperfundierten Nieren gespeichert, es wurden auch zahlreiche diesbezügliche Literaturstellen gefunden (15, 16, 17, 24, 69, 89), dennoch sind auch gegenteilige Befunde bekannt. So blieben in einigen Fällen Komplementtiterabnahmen wider Erwarten aus (23, 26). In Sonderfällen konnten trotz kongenitaler Störungen im Komplementsystem Abstoßungsreaktionen beobachtet werden, an denen keine C'-

Komponenten beteiligt sein konnten, so z. B. bei Fischen (25) und Mäusen (19). In unserem Modell war die Reduzierung des Komplements sicherlich von erheblicher Bedeutung. Eine zusätzliche Abnahme des Komplements nach Gabe gewisser Kobragiftkomponenten bei gleichzeitigem vollständigen Antikörperentzug könnte darüber hinaus noch weitere wertvolle Ergebnisse bringen.

Da in unserem System trotz reichlichen Entzugs präformierter, humoraler Antikörper noch Abstoßungen beobachtet wurden, muß neben restlichen humoralen Antikörpern im Serum der Empfängertiere ein weiteres Antikörperreservoir vorhanden gewesen sein. Ein Nachstrom humoraler Antikörper aus dem Lymphsystem erscheint besonders naheliegend. Sicherer Beweis dieser Theorie wären Verbesserungen der Ergebnisse in unserem System bei zusätzlicher Drainage des Ductus thoracicus. Erste Erfahrungen mit einem derartigen System scheinen diese Vermutungen zu bestätigen (62). Eine andere Möglichkeit zur Schaffung besserer Bedingungen für das Überleben xenogener Transplantate wäre in Form der Bursektomie an Hühnern - dadurch induzierter Agammaglobulinämie - bei gleichzeitiger maximaler Komplementdepression denkbar. Ein kompletter Blutaustausch mit Entzug aller intravasal befindlichen humoralen Antikörpern könnte ebenfalls bessere Ergebnisse bringen. Auch der zusätzliche Einsatz immunsuppressiv wirkender Medikamente wäre zu erwägen.

Die Bedeutung von Gerinnungsstörungen im Zusammenhang mit xenogenen Abstoßungsreaktionen wird neuerdings besonders betont. Die oftmals beschriebenen Thrombozytenaggregate und die bei Gewebsschäden freiwerdende Thrombokinase legen diesen Gedankengang nahe. Die in unseren histologischen Präparaten vereinzelt gefundenen fibrinpositiven Ablagerungen könnten als Hinweis auf die Beteiligung des Gerinnungssystems an Abstoßungsreaktionen im Schwein>Hund-System gewertet werden. Rosenberg et al. (84) folgern aus ihren Untersuchungsergebnissen, daß die Bildung von Thrombozytenaggregaten letztlich zur Formung von Thrombozytenthromben und Aktivierung des Gerinnungs- und Fibrinolysesystems führt. Durch Heparinisierung der Empfängertiere, wie in unseren Versuchen, wäre eine Beeinflussung der xenogenen Abstoßungsreaktion deshalb denkbar. Calne und Mitarbeiter (9) fanden bei xenogenen Lebertransplantationen Gerinnungsstörungen, deren Bewertung aber durch die gleichzeitige Therapie mit ε -Aminocapronsäure und Fibrinogen und die her-

vorragende Bedeutung der Leber für die Pathophysiologie der Gerinnung erschwert war.

Interessante Zusammenhänge zwischen Komplement- und Gerinnungssystem deckten Ratnoff und Naff (75) auf. Zwar bedürfen Gerinnungsvorgänge nicht notwendigerweise der Komplementbeteiligung, jedoch kann das Komplementsystem unter gewissen Bedingungen durch ein Produkt der Gerinnungskette aktiviert werden. Diese Verbindung zweier an sich selbständiger Funktionssysteme ist für das komplexe Geschehen bei xenogenen Abstoßungsreaktionen typisch, da mehrfach verschiedene Systeme verknüpft zu sein scheinen. Deshalb ist es auch schwierig, die Änderungen der Organfunktionen während xenogener Abstoßungsreaktionen einem bestimmten Prozeß im Rahmen des Abstoßungsmechanismus zuzuordnen. Entscheidend dürften jedenfalls Veränderungen des RBF sein, sei es auf Grund eines vasokonstriktorischen Effektes, der letztlich evtl. aus der Phagozytose von Antigen-Antikörper-Komplexen resultiert, die Ergebnis einer intarenal ablaufenden (Gefäßendothel?) Antigen-Antikörper Reaktion sind, oder als Folge eines C'3-Immun-Adhaerenz-Prozesses zwischen Antigen-Antikörper-Komplement-Komplexen und Thrombozyten entsteht, sei es durch Verlegung der renalen Gefäßstrombahn, etwa durch Thrombozyten- oder Leukozytenaggregate.

Während alle bisher angeführten Einzelheiten geeignet sind, mosaikartig einen komplexen, primär immunologisch bedingten xenogenen Abstoßungsmechanismus zu erklären, stellt Calne (8) ein völlig anderes Modell zur Diskussion, nämlich die mögliche Bedeutung inadäquater Enzymsysteme im Spender-Empfängersystem. Hiernach könnte die xenogene Abstoßung auf biochemischen Inkompatibilitäten im Stoffwechsel beruhen. Die Überwindung derartiger nicht immunologisch bedingter "Unverträglichkeitsreaktionen" wäre äußerst problematisch. In diesem Zusammenhang sind Befunde von Land et al. (50) u. U. bedeutsam, die bei isolierter xenogener Hämoperfusion von Rattennieren mit Hundeblut durch Fraktionierung des Perfusats neben ß-Globulinen (präformierte Antikörper enthaltend) besonders α_2-Globuline (keine präformierten Antikörper nachweisbar) als wichtige Serumeiweißfraktion für den Ablauf der hyperakuten Abstoßungsreaktion fanden.

E. ZUSAMMENFASSUNG

1. In der vorliegenden Arbeit wird die hyperakute Abstoßungsreaktion an Nieren im Schwein > Hund-System untersucht.
2. Präformierten, humoralen Antikörpern wird eine entscheidende Bedeutung für hyperakute, xenogene Abstoßungsreaktionen zugeschrieben.
   Es wurden in unseren Versuchen in Hundeseren präformierte komplementbindende und agglutinierende Antikörper gegen Schweinenierengewebe bzw. Schweineerythrozyten nachgewiesen.
3. Es wurden folgende Versuche durchgeführt:
   1 Schweineniere wurde nicht vorperfundiert. Sie wurde mit den Iliacalgefäßen eines unbehandelten Hundes anastomosiert.
   9 Schweinenieren wurden durch hypotherme Vorperfusion konserviert und dann mit Hilfe eines extrakorporalen Perfusionssystems in den Kreislauf unbehandelter Hunde eingeschaltet. 7 Schweinenieren wurden durch hypotherme Vorperfusion konserviert und anschließend über ein extrakorporales Perfusionssystem in den Kreislauf extrem hämodiluierter Hunde (Hämatokrit 9,0) eingeschaltet.
   Durch Hämodilution der Empfängertiere schien die Elimination präformierter, humoraler Antikörper denkbar, da mittels Acetatelektrophorese des Serums derartig vorbehandelter Hunde nach Erreichen des Hämatokrittiefstwertes u. a. keine γ-Globuline mehr nachgewiesen werden können.
4. Während der Abstoßung von Schweinenieren durch unbehandelte Hunde blieben die Titer präformierter komplementbindender Antikörper gegen Schweinenierengewebe und Schweineerythrozyten agglutinierender Antikörper nahezu konstant.
   Durch Hämodilution gelang es, den Hunden die gegen Schweinenierengewebe gerichteten, präformierten, komplementbindenden Antikörper weitgehend zu entziehen. Während der Abstoßung von Schweinenieren durch derartig vorbehandelte Hunde zeigten sich keine Veränderungen dieses Antikörperspiegels.
   Präformierte, Schweineerythrozyten agglutinierende Antikörper in Hunden konnten durch Hämodilution in einigen Versuchen eliminiert werden. In anderen gleichartigen Experimenten nahm der Antikörperspiegel erst im Verlauf der

Xenoperfusion ab.

5. Eine mögliche Bedeutung von Leukoagglutininen für den xenogenen Abstoßungsmechanismus konnte im Schwein > Hund-System nicht verifiziert werden.
6. Die Schweinenieren wurden als vollständig abgestoßen definiert, wenn die renale Durchblutung zum Erliegen gekommen war, d. h. 0 ml/min/100 g Niere betrug.
7. Eine nicht vorperfundierte Schweineniere wurde innerhalb von 8 min durch einen unbehandelten Hund abgestoßen. Es wurde kein Urin ausgeschieden.
   Hypotherm konservierte Schweinenieren wurden je nach Zusammensetzung der Spüllösung nach 17,5 bzw. 107,1 min abgestoßen. Es wurden 0 bzw. 13,2 ml Urin produziert.
   Hypotherm vorperfundierte Schweinenieren wurden durch extrem hämodiluierte Hunde nach 698 min abgestoßen. Es wurden 706,4 ml Urin produziert.
8. Kombinierte Vorbehandlung von Hunden mit Cyclophosphamid bzw. Antilymphozytenserum und zusätzlicher Hämodilution erbrachte in Stichversuchen keine Verbesserung der Nierenfunktion im Vergleich zur Abstoßung von Schweinenieren durch hämodiluierte Hunde. Der path.-anatomische Befund wich bei zusätzlicher Vorbehandlung mit Cyclophosphamid von den Ergebnissen der anderen Hämodilutionsversuche ab.
9. Auf Grund der Versuche ist es erwiesen, daß durch Hämodilution der Empfängertiere die hyperakute Abstoßung von Schweinenieren durch Hunde verzögert werden kann, was die Bedeutung präformierter, humoraler Antikörper nachdrücklich unterstreicht. Weitere Folgereaktionen im Verlauf der xenogenen Abstoßung werden an Hand der Befunde diskutiert.

F. LITERATURÜBERSICHT

1. Altman, B.
Hemagglutinin in skin and kidney homotransplantation in dogs
Transplantation 3, 326 (1965)

2. Avramovici, A.
Les transplantations de rein
Lyon Chir. 21, 734 (1924)

3. Beisang, A. A.; E. F. Graham; R. C. Lillehei; R. H. Dietzman; J. E. Carter
Enzyme levels in the effluent perfusates from frozen canine kidneys
Transpl. Proc. 1, 862 (1969)

4. Bloch, J. H.; J. K. Longerbeam; W. G. Manax; S. Hilal; R. C. Lillehei
Preservative solutions for freezing whole organs in vitro
Trans. Amer. Soc. art. int. Organs 9, 139 (1963)

5. Blumenstock, D. A.; H. B. Hechtman; J. A. Collins
Preservation of the canine lung
J. Thoracic. and Cardiovasc. Surgery 44, 771 (1962)

6. Brendel, W.; Pichlmayr, R.
Heterologe Antilymphozytenseren zur Immunsuppression bei Organtransplantationen
Dtsch. med. Wschr. 92, 549 (1967)

7. Busch, E. W.; R. Matthias; G. Gercken
Break-down pattern of the purine nucleotides in mammalian tissues and their importance for organ transplantation
Europ. Surg. Res. 1, 222 (1969)

8. Calne, R. Y.
Diskussionsbemerkung
Kitzbühel 1970

9. Calne, R. Y.; D. R. Davis; J. R. Pena; H. Balner; M. de Vries; B. M. Herbertson; V. C. Joysey; P. R. Millard; M. J. Seaman; J. R. Samuel; J. Stibbe; D. L. Westbroek
Hepatic allografts and xenografts in primates
The Lancet 1, 103 (1970)

10. Calne, R. Y.; H. J. O. White; B. M. Herbertson; P. R. Millard; D. R. Davis; J. R. Salaman; J. R. Samuel
Pig-to-baboon liver xenografts
The Lancet 1, 1176 (1968)

11. Carrel, A.
Doppelte Nephrektomie und Reimplantation einer Niere
Langenbecks Arch. klin. Chir. 88, 379 (1909)

12. Cerilli, G. J.; L. Gideon
Successful long term inhibition of xenograft rejection
Surg. Forum 20, 284 (1969)

13. Clark, D. S.; J. E. Foker; H. Gewurz; R. A. Good; R. L. Varco
Effector mechanisms in renal graft rejection
Surgery 62, 770 (1967)

14. Clark, D. S.; J. E. Foker; R. Pickering; R. A. Good, R. L. Varco
Evidence for two platelet populations in xenograft rejection
Surg. Forum 17, 264 (1966)

15. Clark, D. S.; H. Gewurz; R. A. Good; R. L. Varco
Complement fixation during heterograft rejection
Surg. Forum 15, 144 (1964)

16. Clark, D. S.; H. Gewurz; R. L. Varco
Serologic studies on accelerated graft rejection
Fed. Proc. 24, 621 (1965)

17. Clark, D. S.; H. Gewurz; R. L. Varco
Mechanisms in immediate xenogeneic graft rejection
Fed. Proc. 25, 296 (1966)

18. Cortesini, R.; P. Stefanini
zitiert von Keith Reemtsma in
Ann. N. Y. Acad. Sci. 162, 412 (1969)

19. Crisler, C.; M. M. Frank
Skin graft rejection and the Arthus reaction in mice deficient in the third component (C'3) of complement
Fed. Proc. 24, 447 (1965)

20. Dempster, W. J.; S. L. Kountz; M. Jovanovic
Simple kidney-storage technique
Brit. med. J. I, 407 (1964)

21. Egdahl, R. H.; R. A. Good; R. L. Varco
Studies in homograft and heterograft survival
Surgery 42, 228 (1957)

22. Ellis, R. J.; A. L. Rubin; K. H. Stenzel; C. W. Lillehei
Xenograph prolongation by molecular coating with antigenically altered collagen
Surg. Forum 20, 286 (1969)

23. Favour, C. B.; J. E. Murray; C. T. Wemyss; A. Colodny; B. F. Miller
Serum complement levels in dogs undergoing kidney homotransplantation
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 83, 352 (1953)

24. Gewurz, H.; D. S. Clark; M. D. Cooper; R. L. Varco; R. A. Good
Effect of cobra venom-induced inhibition of complement activity on allograft and xenograft rejection reactions
Transplantation 5, 1296 (1967)

25. Gewurz, H.; J. Finstad; L. H. Muschel; R. A. Good
in: Phylogeny of immunity, S. 105
University of Florida Press, Gainesville, Florida (1966)

26. Gewurz, H.; M. A. South; R. A. Good
The ontogeny of complement activity. Complement titers in the developing chick embryo during graft-versus-host reactions
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 123, 718 (1966)

27. Goldsmith, E. A.
zitiert von Keith Reemtsma in
Ann. N. Y. Acad. Sci. 162, 412 (1969)

28. Gruber, U. F.
Blutersatz, S. 81
Springer Verlag Berlin-Heidelberg-New York (1968)

29. Guiney, E. J.; K. F. Austen; P. S. Russell
Measurement of serum complement during homograft rejection in man and rat
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 115, 1113 (1964)

30. Gunnarsson, A.; A. W. Moberg; H. Gewurz; R. J. Perper; J. S. Najarian
Synergistic effects of cytosine arabinoside combined with antilymphocyte globulin for suppressing xenograft rejection
Surg. Forum 20, 263 (1969)

31. Hambsch, K.; W. Otto
Die Beeinflussung des hämopoetischen Systems der weißen Ratte durch einen N-Lost-Cyclophosphamidester (Endoxan-Asta)
Folia haemat. (Leipzig) 86, 174 (1966)

32. Hansson, L.
Acta chir. scand. suppl. 345, 35 (1965)

33. Henson, P. M.
Mechanisms of release of constituents from rabbit platelets by antigen-antibody complexes and complement
I. Lytic and nonlytic reactions
J. Immun. 105, 476 (1970)

34. Henson, P. M.
Mechanisms of release of constituents from rabbit platelets by antigen-antibody complexes and complement
II. Interaction of platelets with neutrophils
J. Immun. 105, 490 (1970)

35. Hitchcock, C. R.; J. C. Kiser; R. L. Telander; T. A. Peterson
Effect of low molecular weight dextran on organ perfusion and sludging
Surgery 56, 533 (1964)

36. Hitchcock, C. R.; J. C. Kiser; R. L. Telander; E. L. Seljeskog
Baboon renal grafts
JAMA 189, 934 (1964)

37. Hollenberg, N. K.; A. B. Retik; S. M. Rosen; J. E. Murray; J. P. Merrill
The role of vasoconstriction in the ischemia of renal allograft rejection
Transplantation 6, 59 (1968)

38. Holper, K.
Langfristiges Überleben akuter extremer Hämodilution
Inaugur. Diss. München (1969)

39. Hume, D. M.
Diskussion zu Keith Reemtsma
Ann. Surg. 160, 409 (1964)

40. Humphries, A. L.; R. Russell; J. Ostafin; S. M. Goodrich; W. H. Moretz
Successful reimplantation of canine kidney after 24 hour storage
Surgery 54, 136 (1963)

41. Jaboulay, M.
Greffe de reins au pli du coude par soudures artérielles et veineuses
Lyon Med. 107, 575 (1906)

42. Kaboth, W.; F. Trepel; P. Schick; G. Wernekke; H. Begemann
Morphologische und funktionelle Veränderungen im Blutzellsystem mit zytostatischen Substanzen und Prednisolon. II. Veränderungen der Zellzusammensetzung sowie der DNS-, RNS- und Proteinsynthese in blutbildenden Organen
Z. ges. exp. Med. 148, 306 (1968)

43. Kerstein, M.; S.-E. Bergentz; D. H. Lewis
Clearance of red blood cells by perfusion of cadaver kidneys: influence of various perfusing solutions and ischemia times
Europ. Surg. Res. 1, 197 (1969)

44. Kincaid-Smith, P.
Histological diagnosis of rejection of renal homografts in man
The Lancet 2, 849 (1967)

45. Kissmeyer-Nielsen, F.; S. Olsen; V. P. Petersen; O. Fjeldborg
Hyperacute rejection of kidney allografts, associated with pre-existing humoral antibodies against donor cells
The Lancet 2, 662 (1966)

46. Klövekorn, W. P.
Inaugur. Diss. in Vorbereitung

47. Koo, G. C. G.; E. D. Monaghan; M. H. Gault; L. D. MacLean
Comparative value of lymphocyturia, serum, and urinary enzymes in the diagnosis of renal homograft rejection
Surg. Forum 16, 256 (1965)

48. Lance, E. M.; P. B. Medawar
Survival of skin heterografts under treatment with antilymphocytic serum
The Lancet 1, 1174 (1968)

49. Land, W.; G. Grabs; W. Brendel
Immunosuppressive effect of anti-macrophage antibodies in rats
Europ. Surg. Res. 1, 211 (1969)

50. Land, W.; A. Schilling; J. Aldenhoff; R. Lamerz; K. Pielsticker; N. Mendler; W. Brendel
In vitro studies on the mechanism of hyperacute xenograft rejection
International Congress of the Transplantation Society
The Hague 1970
Transpl. Proc. (im Druck)

51. Largiadèr, F.
Organtransplantation, S. 55 ff.
Goerg Thieme Verlag, Stuttgart (1966)

52. Lemperle, G.; E. Müller; W. Michaelis; U. Wieczorek
Die Bestimmung des Lysozyms im Serum und Urin nach Nierentransplantation
Langenbecks Arch. klin. Chir. 325, 719 (1969)

53. Lewis, D. H.; S.-E. Bergentz; U. Brunius; L.-E. Gelin
Blood flow in kidney transplants: Studies at exploration of a previously transplanted kidney, with special reference to rejection
Ann. Surg. 168, 803 (1968)

54. Ljungqvist, U.; S.-E. Bergentz; G. Claes
Platelet consumption during rejection of canine renal homograft
Europ. Surg. Res. 1, 218 (1969)

55. Lowenhaupt, R.; P. Nathan
Early accumulations of platelets in allotransplants of the dog kidney observed by electron microscopy
J. Cell Biol. 35, 83 A (1967)

56. Lowenhaupt, R.; P. Nathan
Platelet accumulation observed by electron microscopy in the early phase of renal allotransplant rejection
Nature 220, 822 (1968)

57. Lowenhaupt, R.; P. Nathan
The participation of platelets in the rejection of dog kidney allotransplants: Hematologic and electron microscopy studies
Transpl. Proc. 1, 305 (1969)

58. Manax, W. G.; J. H. Bloch; F. Largiadèr; G. W. Lyons; Z. Eyal; R. C. Lillehei
Organ perfusion before transplantation, with particular reference to the kidney
Surgery 57, 528 (1965)

59. Marceau, J. P.; G. A. Hallenbeck; P. E. Zollman; H. C. Butler; R. G. Shorter
A comparison of autoplastic,allogeneic and xenogeneic perfusion of isolated kidneys
J. Surg. Res. 5, 492 (1965)

60. Mathew, T. H.; P. Kincaid-Smith; J. Fremin; V. C. Marshall
zitiert von P. Kincaid-Smith in
The Lancet 2, 849 (1967)

61. McMillan, R.
Heparin in delayed transplant function
The Lancet 1, 1178 (1968)

62. Meßmer, K.; C. Hammer; W. Land; L. Fiedler; W. P. Klövekorn; G. Lob; D. Merzel; W. Brendel
Modification of the hyperacute xenogeneic kidney rejection
International Congress of the Transplantation Society
The Hague 1970
Transpl. Proc. (im Druck)

63. Meßmer, K.; M. Schmidt-Mende
Die Kältevasokonstriktion der Nierengefäße
Z. ges. exp. Med. 139, 468 (1965)

64. Movat, H. Z.; J. F. Mustard; N. S. Taichman; T. Uriuhara
Platelet aggregation and release of ADP, serotonin and histamine associated with phagocytosis of antigen-antibody complexes
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 120, 232 (1965)

65. Mowbray, J. F.; E. Ellis; J. R. Ackerman
zitiert von R. McMillan in
The Lancet 1, 1178 (1968)

66. Muschel, L. H.; L. Gustafson; M. Atai
Effect of anti-lymphocyte serum on natural antibody
Immunology 14, 285 (1968)

67. Neuhof, H.
The transplantation of tissues, S. 260
D. Appleton and Co., New York, N. Y. (1923)

68. Owen, E. R.
Prolonged survival in heterografted kidneys with transplantation antigen pretreatment
Nature 219, 970 (1968)

69. Perper, R. J.; J. S. Najarian
Experimental renal heterotransplantation
I. In widely divergent species
Transplantation 4, 377 (1966)

70. Pichlmaier, H.
Persönliche Mitteilung
siehe auch: A. Bohle; H. Edel; H. Pichlmaier in: "Organtransplantation, Immunologie und Klinik". Hrsg. A. Heymer u. D. Ricken, S. 371.
Stuttgart und New York: F. K. Schattauer (1969)

71. Pichlmayr, R.; W. Brendel; G. Tidow
Eigenschaften heterologer Immunseren gegen Hundelymphozyten
Z. ges. exp. Med. 143, 299 (1967)

72. Porter, K. A.
J. clin. Path. 20, suppl. p. 518 (1967)

73. Princeteau, M.
Greffe rénale
J. Med. Bordeaux 26, 549 (1905)

74. Prout, G. R.; E. V. Macalalag; D. M. Hume
Serum and urinary lactic dehydrogenase in patients with renal homotransplants
Surgery 56, 283 (1964)

75. Ratnoff, O. D.; G. B. Naff
The conversion of C'1s to C'1 esterase by plasmin and trypsin
J. Exp. Med. 125, 337 (1967)

76. Reemtsma, K.
Verbalization - "Heterograft versus xenograft"
New. Engl. J. Med. 272, 380 (1965)

77. Reemtsma, K.
Heterotransplantation
Transpl. Proc. 1, 251 (1969)

78. Reemtsma, K.; B. H. McCracken; J. U. Schlegel; M. A. Pearl
Heterotransplantation of the kidney: 2 clinical cases
Science 143, 700 (1964)

79. Reemtsma, K.; B. H. McCracken; J. U. Schlegel; M. A. Pearl; C. W. DeWitt; O. Creech
Reversal of early graft rejection after renal heterotransplantation in man
JAMA 187, 691 (1964)

80. Reemtsma, K.; B. H. McCracken; J. U. Schlegel; M. A. Pearl; C. W. Pearce; C. W. DeWitt; P. E. Smith; R. L. Hewitt; R. L. Flinner; O. Creech
Renal heterotransplantation in man
Ann. Surg. 160, 384 (1964)

81. Retik, A. B.; N. K. Hollenberg; S. M. Rosen; J. P. Merrill; J. E. Murray
Cortical ischemia in renal allograft rejection
Surg. Gyn. & Obst. 124, 989 (1967)

82. Roscher, R.
Die Beeinflussung der experimentellen allergischen Encephalomyelitis mit heterologem Antilymphozytenserum bei der Ratte
Inaugur. Diss., München (1969)

83. Rosen, S. M.; A. B. Retik; N. K. Hollenberg; J. P. Merrill; J. E. Murray
Effect of immunosuppressive therapy on the intrarenal distribution of blood flow in dog renal allograft rejection
Surg. Forum 17, 233 (1966)

84. Rosenberg, J. C.; R. J. Broersma; G. Bullemer; E. F. Mammen; R. Lenaghan; B. F. Rosenberg
Relationship of platelets, blood coagulation, and fibrinolysis to hyperacute rejection of renal xenografts
Transplantation 8, 152 (1969)

85. Saker, B.; P. Kincaid-Smith; J. Hirsh; T. H. Mathew; J. Eremin; V. C. Marshall
zitiert von P. Kincaid-Smith in
The Lancet 2, 849 (1967)

86. Schick, P.; F. Trepel; H. Begemann
Morphologische und funktionelle Veränderungen im Blutzellsystem des Meerschweinchens nach Behandlung mit zytostatischen Substanzen, Prednisolon und Phenylbutazon. I. Veränderungen verschiedener Leukozyten- und Lymphozytenuntergruppen im Blut
Z. ges. exp. Med. 148, 275 (1968)

87. Schönstadt
zitiert von Morel und Papin in
Biol. Med. 10, 397 (1913)

88. Seinfeld, H.; W. Brendel
Prolonged function of xenogeneic kidneys after perfusion with an unspecific RNA
Europ. Surg. Res. 1, 219 (1969)

89. Snyder, G. B.; E. Ballesteros; R. M. Zarco; B. S. Linn
Prolongation of renal xenografts by complement suppression
Surg. Forum 17, 478 (1966)

90. Spaet, T. H.; M. B. Zucker
Mechanism of platelet plug formation and role of adenosine diphosphate
Amer. J. Physiol. 206, 1267 (1964)

91. Starzl, T. E.; R. A. Lerner; F. J. Dixon; C. G. Groth; L. Brettschneider; P. I. Terasaki
Shwartzman reaction after human renal homotransplantation
New Engl. J. Med. 278, 642 (1968)

92. Starzl, T. E.; T. L. Marchioro; G. N. Peters; C. H. Kirkpatrick; W. E. C. Wilson; K. A. Porter; D. Rifkind; D. A. Odgen; C. R. Hitchcock; W. R. Waddell
Renal heterotransplantation from baboon to man: Experience with 6 cases
Transplantation 2, 752 (1964)

93. Stewart, J. H.; A. G. R. Sheil; J. R. Johnson; K. M. Wyatt; A. M. Sharp; J. M. Johnston
Successful renal allotransplantation in presence of lymphocytotoxic antibodies
The Lancet 1, 176 (1969)

94. Sunder-Plassmann, L.
Persönliche Mitteilung

95. Terasaki, P. I., D. L. Thrasher; T. H. Hauber in:
Advance in Transplantation, p. 225 (edited by J. Dausset, J. Hamburger and G. Mathé)
Munksgaard, Copenhagen (1968)

96. Traeger, J.
zitiert von Keith Reemtsma in
Ann. N. Y. Acad. Sci. 162, 412 (1969)

97. Ullmann, E.
Experimentelle Nierentransplantation. Vorläufige Mitteilung
Wien. klin. Wschr. 15, 281 (1902)

98. Unger, E.
Nierentransplantationen
Berl. klin. Wschr. 47, 573 (1910)

99. Way, L. W.; J. May; R. J. Perper
Experimental renal heterotransplantation in various species
Fed. Proc. 24, 572 (1965)

100. Weitzel, H. K.
Studies on the role of serum complement in allograft rejection and in immunosuppression by antithymocyte serum (ATS)
Europ. Surg. Res. 1, 210 (1969)

101. Williams, G. M.; D. M. Humne; R. P. Hudson; P. J. Morris; K. Kano; F. Milgrom
"Hyperacute" renal-homograft rejection in man
New Engl. J. Med. 279, 611 (1968)

102. Williams, G. M.; H. M. Lee; R. F. Weymouth; W. R. Harlan; K. R. Holden; C. M. Stanley; G. A. Millington; D. M. Hume
Studies in hyperacute and chronical renal homograft rejection in man
Surgery 62, 204 (1967)

103. Zimmermann, W. E.; M. Kessler; G. Lemperle; D. Seitz; R. Dierkesmann
The avoidance of primary hypoxic damage during liver preservation by perfusion with Hb-free solutions
Transpl. Proc. 1, 819 (1969)

Besonders möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. W. Brendel für die Bereitstellung des Arbeitsplatzes am Institut für experimentelle Chirurgie der Universität München und für die umfassende Betreuung beim Entstehen dieser Arbeit bedanken.

Herrn Priv.-Doz. Dr. K. Meßmer und Herrn Dr. W. Land danke ich für die Einführung in das experimentelle Arbeiten und für die verständnisvolle Beratung während der Experimente.

Für technische Unterstützung bin ich Herrn Dr. P. W. Klövekorn, Herrn Dr. K. Holper, Herrn Dr. C. Hammer, Herrn Dr. U. Steude und den med.-techn. Assistentinnen des Instituts zu Dank verpflichtet.

LEBENSLAUF

3. 6. 1946	geboren in Nabburg/Opf.; Eltern: Amtsgerichtsdirektor Dr. Ludwig Fiedler und Senta Fiedler, geb. Zölch
1952-1956	Besuch der Volksschule in Schwandorf/Opf.
1956-1965	Besuch der Oberrealschule in Schwandorf/Opf. und der Holbein-Oberrealschule in Augsburg Abitur im Juli 1965
1965-1968	vorklinisches Studium an der Universität München naturwissenschaftl. Vorprüfung SS 1966 ärztliche Vorprüfung WS 1967/68
1968-1971	klinisches Studium an der Universität München
7. 10. 1968	Beginn der Mitarbeit am Institut für experimentelle Chirurgie der Universität München
Frühjahr 1971	Ablegen der ärztlichen Prüfung an der Universität München